

**Röntgenfeinstrukturuntersuchungen
bei 5-monosubstituierten Barbitursäuren**

Wolfgang Sperling
aus Posen/Warthegau

1971 P 45 6

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität
Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Röntgenfeinstrukturuntersuchungen bei 5-monosubstituierten Barbitursäuren

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Wolfgang Sperling
aus Posen/Warthe-gau

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg.



Dekan: Prof. Dr. med. Gerhard Koch

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 30. September 1971

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
B. ALLGEMEINER TEIL	2
I. Bedeutung der 5-monosubstituierten Barbitursäuren	2
1. Vorkommen als Stoffwechselprodukte	2
2. Pharmakologische Bedeutung	3
II. Grundlagen der Röntgenfeinstrukturanalyse	4
1. Kristallographische Grundlagen	4
a) Das Wesen eines Kristalls (Definition)	4
2. Grundlagen der Röntgenfeinstrukturtechnik	5
a) Erzeugung von Röntgenstrahlen	5
1. Das kontinuierliche Spektrum	5
2. Das charakteristische Spektrum	5
b) Verwendung der Röntgenstrahlen für Kristalluntersuchungen	6
c) Reflexionstheorie der Röntgenstrahlinterferenzen und ihre Anwendung	6
III. Das DEBYE-SCHERRER-Verfahren	8
1. Beschreibung des Kristalloflex II	8
2. Das Blendensystem	9
3. Der Arbeitsbereich der Röntgenröhren	10
4. Zweck der K α -Filter	10
5. Probenzubereitung	11

IV.	Auswertung der Röntgenfeinstruktur- diagramme	12
1.	Ermittlung von Theta ()	12
2.	Messung der Interferenzlinienabstän- de	12
3.	Errechnung von Theta und der Gitter- konstanten d	13
4.	Korrektur des d-Wertes	13
5.	Über die Linienintensität und ihre Ermittlung	15
6.	Die ASTM-Kartei	16
C.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	18
I.	Untersuchungen der Ausgangssubstan- zen	18
II.	Bestimmung der d-Werte der Ausgangs- substanzen	20
III.	Thermomikroskopische Untersuchungen der Ausgangssubstanzen auf Kristall- wasser	24
IV.	Kristallisation aus verschiedenen organischen Lösungsmitteln bei Raum- temperatur	25
1.	Löslichkeit und Einfluß der Lö- sungsmittel auf die Kristallform	25
a)	Kristalle der 5-Isopropyl- barbitursäure	26
b)	Kristalle der 5-(1-Methylpro- pyl-)barbitursäure	26
c)	Kristalle der 5-n-Butylbarbi- tursäure	27
d)	d-Werte	27
2.	Kristallisation aus organischen Lösungsmitteln über dem Wasser- bad	27
V.	Sublimationsversuche	28
1.	Deckglassublimation	28
2.	Vakuumsublimation nach SCHMIDT (1959)	29
3.	Sublimation im Heizschrank	30

' III '

	Seite
VI. Polymorphe Formen bei der 5-n-butylbarbitursäure	32
1. Deutung der Versuche	33
2. Die d-Werte der neuen Modifikation	34
VII. Kristallisation aus Wasser	35
1. Versuchsanordnung	35
2. Identitätsbestimmung	35
a) UV-spektroskopische Untersuchung	35
b) Darstellung der 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren	36
c) Vergleich der Röntgenbeugungsdiagramme	37
3. Sublimation im Heizschrank	38
4. Schmelzpunktbestimmung	39
5. Die Gitterkonstanten der 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren	39
6. Kristallisation aus Wasser über dem Wasserbad	43
7. Ursache der leichten Hydroxylierung 5-monosubstituierter Barbitursäuren	43
VIII. Gefriertrocknung	44
1. Versuchsablauf	44
2. Ergebnisse	45
IX. Über die Entstehung eines roten Farbstoffes	46
1. Literaturangaben über Rotfärbung 5-monosubstituierter Barbitursäuren	47
2. Darstellung des roten Farbstoffes aus Alloxan	48
D. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG	49
E. LITERATURVERZEICHNIS	52

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Da im Verlauf einer toxikologischen Analyse aus Harn, Blut, Leber, Magen-Darm-Trakt und anderen Organen isolierte Giftmengen oft sehr gering sind, ist die Identifizierung häufig schwierig.

Die Röntgenfeinstrukturanalyse gewinnt in der forensisch-toxikologischen Mikroanalyse zunehmend an Bedeutung, da viele Pharmaka und organische Verbindungen mit dieser Methode untersucht und katalogisiert sind.

Der Vorteil der Röntgenfeinstrukturanalyse ist der geringe Substanzbedarf (1 mg). Diese Menge kann später für andere Untersuchungen weiterverwendet werden, da Röntgenstrahlen im allgemeinen keine Veränderungen in der Struktur der Substanz bewirken.

Auf Grund der großen Anzahl der in Deutschland im Handel befindlichen Barbiturate und wegen ihrer Neigung zur Polymorphie, erweist sich ihre Identifikation oft als schwierig.

In der vorliegenden Arbeit werden drei 5-monosubstituierte Barbitursäuren unter Bedingungen untersucht, wie sie bei chemisch-toxikologischen Untersuchungen vorliegen. Es wurde geprüft, ob 5-monosubstituierte Barbitursäuren polymorphes Verhalten aufweisen. Dabei sollte die reproduzierbare Anwendbarkeit der Röntgenfeinstrukturanalyse untersucht werden.

B. ALLGEMEINER TEIL

I. Bedeutung der 5-monosubstituierten Barbitursäuren

1. Vorkommen als Stoffwechselprodukte

HAYAISHI und KORNBERG (1957) fanden, daß bakterielle Enzyme Thymin über 5-Methylbarbitursäure, Cytosin und Uracil über Barbitursäure als Zwischenprodukt abbauen, wobei dieser Abbauweg über ein einziges Enzym zu laufen scheint. Der weitere Abbau der Barbitursäure und 5-Methylbarbitursäure war an die Anwesenheit von Luft-O₂ gebunden.

KLUEPFEL, LANCINI und SARTORI (1965) berichten über eine geringe Metabolisierung von 5,5-Diäthylbarbitursäure durch *Streptomyces mediterranei* zu 5-Äthylbarbitursäure und 5-Äthylidialursäure. Nach Gabe von Barbitol-2-C₁₄ fanden sie 0,5 % 5-Äthylbarbitursäure und 1,7 % 5-Äthylidialursäure, nach Gabe von Barbitol-5-C₁₄ 0,7 % 5-Äthylbarbitursäure und 1,7 % 5-Äthylidialursäure.

GOLDSCHMIDT und WEHR (1957) wiesen nach Gabe von C₁₄-markierter 5-Vinyl-5-äthylbarbitursäure 5 % 5-Äthylbarbitursäure nach.

GOLDSCHMIDT und KOSS (1959 a,b) bestimmten bei gleicher Versuchsanordnung nach Gabe von C₁₄-markierter 5-Äthyl-5-cyclohexenylbarbitursäure eine 8,6 - 9,3 %ige Menge 5-Äthylbarbitursäure.

EBERT, YIM und MIYA (1964) bewiesen, daß bei Ratten, die an Barbitol gewöhnt waren, die doppelte Menge wie bei Kontrolltieren metabolisiert wurde und identifizierten als einzigen Metaboliten 5-Äthylbarbitursäure.

WADDEL (1965) isolierte aus dem Urin zweier Versuchspersonen nach Aufnahme von 5-Allyl-5-(1-methylbutyl)barbitursäure als Metaboliten 5-(1-Methylbutyl)barbitursäure und 5-(1-Methylbutyl)dialursäure.

GELDMACHER, v.MALLINCKRODT, MACHBERT und GELDMACHER (1968) sowie PREUSS (1968) isolierten als Hauptstoffwechselprodukt der 5-Vinyl-5-(1-methylbutyl)barbitursäure beim Menschen nach Überdosierung 5-(1-Methylbutyl)barbitursäure. Dieser Metabolit machte im Durchschnitt 20 - 30 % der Gesamtmetabolitenmenge aus und in einem Fall sogar 100 %.

2. Pharmakologische Bedeutung

Für die Therapie haben 5-monosubstituierte Barbitursäuren keine Bedeutung, da ihre hypnotische Wirksamkeit gegenüber den Barbituraten in den Hintergrund tritt.

KLUEPFEL, LANCINI und SARTORI (1965) beobachteten, daß 5-Äthylbarbitursäure und 5-Äthyldialursäure in einer Konzentration von 0,5 - 1 g/l ihres Kulturmediums für *Streptomyces mediterranei* die Bildung antibiotischer Substanzen hemmten, jedoch in niedrigerer Konzentration die Bildung eines der weniger erforschten antibiotischen Anteile des Rifaminycinkomplexes steigerten.

Die Antitumorwirkung einiger 5-monosubstituierter Barbitursäuren untersuchten UKITA und Mitarbeiter (1960). Sie fanden, daß das Na-Salz der 5-Phenylcarbamoylbarbitursäure eine deutliche Antitumoraktivität auf Ehrlich Ascites Carcinomzellen in Mäusen aufwies.

II. Grundlagen der Röntgenfeinstrukturanalyse

1. Kristallographische Grundlagen

a. Das Wesen eines Kristalls (Definition)

Man spricht von einem Kristall, wenn es sich um einen festen, homogenen Körper handelt, dessen Atome oder Atomgruppen periodisch angeordnet sind. Wenn man Schwingungszentren eines Kristalls von einem Ursprung aus um bestimmte Beträge (Translationen) in gleicher Richtung verschiebt, wird ein dreidimensionales Gitter oder Raumgitter aufgebaut. Die kleinste Einheit des Kristall- oder Raumgitters wird Elementarzelle genannt.

In einem Kristallgitter genügen drei Punkte, um eine Netzebene festzulegen. Da ein Gitter aus periodischen Bausteinen aufgebaut ist, gehört zu jeder Netzebene eine große Zahl paralleler Ebenen mit dem Abstand d . Die äußeren Kristallflächen entsprechen den Netzebenen des Kristallgitters. Eine Fläche einer gegebenen Kristallart kommt umso häufiger vor und ist umso größer entwickelt, je dichter die entsprechenden Netzebenen mit Gitterpunkten belegt sind. Es besteht daher eine Wechselbeziehung zwischen Kristallmorphologie und Kristallstruktur.

Das Koordinatensystem jedes Kristalls ist durch die Translationen a_0 , b_0 , c_0 der Elementarzelle mit einem arteigenen Achsenverhältnis ($a_0 : b_0 : c_0$) festgelegt und jede Netzebene durch ihre Schnittpunkte mit den Koordinatenachsen $m a_0$, $n b_0$, $p c_0$. Das kristallographische Achsenverhältnis $a_0 : b_0 : c_0$ ergibt sich aus den kristallmorphologisch gewonnenen Normalwinkeln, so daß die ganzen Zahlen m , n , p , eine Fläche charakterisieren.

Da die Richtungs cosinus der Flächennormalen mit den Achsen sich umgekehrt wie die Achsenabschnitte verhalten, verwendet man zur Kennzeichnung einer Fläche zweckmäßigerweise das reziproke Verhältnis der Achsenabschnitte (h, k, l).

$$h : k : l = 1/m : 1/n : 1/p$$

Das Zahlentripel h, k, l formt man so um, daß ganze teilerfremde Zahlen entstehen. Dieses umgeformte, ganzzahlige Flächensymbol h, k, l bezeichnet man als MILLER'SCHE Indizes einer Netzebenenchar. Es zeigt sich, daß die MILLER'SCHEN Indizes der einzelnen Flächenscharen umso kleiner sind, je dichter die betreffenden Netzebenen mit Gitterpunkten besetzt sind und diejenigen Kristallflächen morphologisch besser ausgebildet sind, die einfachere MILLER'SCHE Indizes haben.

2. Grundlagen der Röntgenfeinstrukturtechnik

a. Erzeugung der Röntgenstrahlen

Als Röntgenstrahlen bezeichnet man elektromagnetische Wellen im Bereich von etwa $0,1 - 10 \text{ \AA}$. Sie entstehen beim Auftreffen von schnellen Elektronen auf Materie.

In der Röntgenröhre werden die Elektronen von der Glühkathode emittiert und durch Hochspannung zur Anode hin beschleunigt. Die Anode strahlt dabei durch bestimmte Prozesse ausgelöste Röntgenstrahlung aus.

1. Das kontinuierliche Spektrum oder Bremsspektrum wird durch Elektronen ausgelöst, die ihre Energie ganz oder teilweise in Form von Strahlung abgeben. Der Grenzwert auf der Seite der kurzen, energiereicheren Wellen ergibt sich aus der Quantenbeziehung $E = e \cdot U = h \cdot \nu$ und $\nu = c/\lambda$. Dabei ist das Produkt $e \cdot U$ die Energie, die ein Elektron der Ladung e bei der angelegten Spannung U annimmt, und $h \cdot \nu$ die Energie des Röntgenquants.
2. Das charakteristische Spektrum kennzeichnet das jeweilige Anodenmaterial und überlagert das kontinuierliche Spektrum. Es handelt sich dabei um Serien bestimmter Wellenlänge. Die Serien werden nach den Buchstaben der Schalen des Atommodells benannt, auf die das Elektron springt. Die kurzwelligste Serie ist die K-Serie, die

nächste bezeichnet man als L-Serie usw. Mit griechischen Buchstaben bezeichnet man die Bahn, von der das Elektron kommt: α = Nachbarbahn; β = übernächste Bahn usw.

Die Spannung, die angelegt werden muß, um eine bestimmte Serie zu erhalten, nennt man Anregungsenergie. Sie ist für die am weitesten innenliegende K-Schale am höchsten.

Die beschleunigten Elektronen schlagen durch Elektronenstoß Elektronen des Anodenmaterials aus ihren Schalen. Durch Übergang eines Elektrons aus einer weiter außen liegenden Schale wird die Lücke geschlossen und die neu entstandene Lücke wiederum durch ein Elektron einer noch weiter außen liegenden Schale. Das Elektron, das den Quantensprung vollzieht, gibt die Energiedifferenz zwischen Anfangs- und Endzustand in Form von Strahlung frei, die umso größer ist, von je weiter außen das Elektron kommt.

b. Verwendung der Röntgenstrahlen für Kristalluntersuchungen

Röntgenstrahlen eignen sich deshalb für Kristalluntersuchungen, weil sich die Wellenlänge in der Größenordnung der Atomabstände bewegt. Für die Streuung von Röntgenstrahlung beim Durchgang durch Materie sind die Elektronen der Atomhülle verantwortlich. Trotzdem spricht man bei Angaben über Streu- oder Reflexionszentren von Atomkernabständen.

c. Reflexionstheorie der Röntgenstrahlinterferenzen und ihre Anwendung

Für die Untersuchung von kristallinen Strukturen finden folgende Verfahren Anwendung:

Beim LAUE-Verfahren wird ein fixierter Einkristall mit kontinuierlicher Röntgenstrahlung untersucht, wobei Interferenzpunkte auftreten.

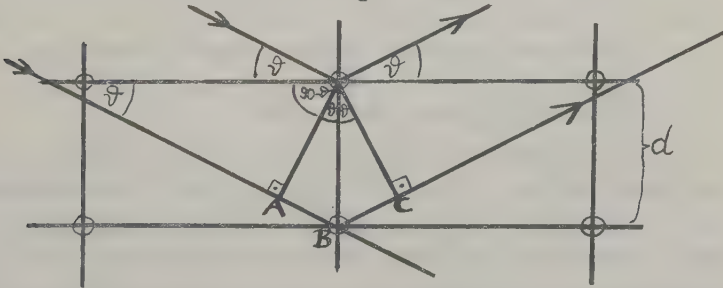
Dagegen werden beim Drehkristall- und beim DEBYE-SCHERRER-Verfahren Röntgenstrahlen mit konstanter Wellenlänge verwendet. Beim Drehen des Einkristalls bzw. des Kristallpulverpräparates entstehen Interferenzpunkte und Interferenzlinien.

Das Zustandekommen der Interferenzen erklärt sich mit der Reflexionstheorie nach W.C.BRAGG (1914): Es tritt dann bei Interferenz Verstärkung einer Netzebene ein, wenn ein Phasenunterschied von $n \cdot \lambda$ besteht. Der Einfallswinkel, der die Bedingung erfüllt, sei der Glanzwinkel ϑ , der Abstand der reflektierenden Gitterebene d , AB und BC (S. Abb. 1) der Gangunterschied des Strahls, λ die Wellenlänge.

BRAGG'SCHE Gleichung:

$$\begin{array}{l} AB + BC = n \cdot \lambda \\ AB = BC = d \sin \vartheta \\ \hline 2 d \sin \vartheta = n \cdot \lambda \end{array}$$

Abb. 1: Reflexion eines Röntgenstrahlbündels



Beim LAUE-Verfahren ist eine Bestimmung der Netzebenenabstände nicht möglich, da die zu der einzelnen Reflexion gehörende Wellenlänge nicht bekannt ist. Aus der BRAGG'SCHEN Gleichung ist ersichtlich, daß bei konstanter Wellenlänge (λ) und bestimmbarem Glanzwinkel der jeweilige Netzebenenabstand (d) berechnet werden kann, wie es beim Drehkristall- und DEBYE-SCHERRER-Verfahren Anwendung findet.

Genauere und ausführliche Informationen finden sich in den Lehrbüchern der Kristallographie, Kristallchemie und

der Röntgenfeinstrukturtechnik (KLEBER 1956; EVANS 1954; NEFF 1962).

III. Das DEBYE-SCHERRER-Verfahren

1. Beschreibung des Kristalloflex II

Bei unseren Versuchen verwendeten wir den Kristalloflex II (Siemens). Das Hochspannungsnetzgerät arbeitet im Halbwellenbetrieb, d.h. die Röntgenröhre ist in den Hochspannungskreis als Gleichrichter eingeschaltet, so daß Röntgenstrahlung nur impulsweise in jeder zweiten Halbwelle erzeugt wird, sobald die nötige Anregungsspannung erreicht ist.

Die niedrigste Spannungsstufe beträgt 25 kV, die maximale 60 kV, der maximale Röhrenstrom 40 mA. Die jeweils höchstzulässige Spannung und der höchstzulässige Röhrenstrom richten sich nach dem Anodenmaterial.

Die automatischen Fensterverschlüsse vor den Strahlenaustrittsöffnungen der Röhre werden durch zwei Langzeitwalzen (1 - 15 Stunden) oder zwei Kurzzeitwalzen (bis 60 Minuten) nach Ablauf der eingestellten Laufzeit betätigt.

Die Siemens-Feinstrukturrohren (Typ AG Me 4k) mit Lindemannglasfenster in Höhe der vier Bohrungen für den Strahlenaustritt haben sich gut bewährt. Das Lindemannglas enthält statt Si, Na und Ca Verbindungen des Bor, Lithium und Beryllium. Es absorbiert fast keine Röntgenstrahlung.

Bei eingeschaltetem Apparat und offenen Fenstern leuchtet (je Fenster) eine rote Warnlampe auf. Da trotz weicher Strahlung direkt im Strahlengang hohe Dosisleistungen gemessen

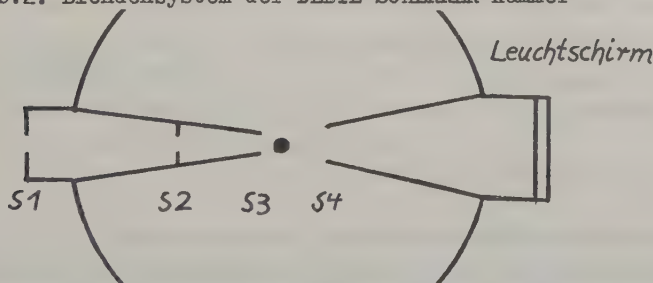
werden, dürfen die Fensterverschlüsse nur dann geöffnet werden, wenn die Zylinderkammern bereits angebracht sind, die aus Kammermittelteil, Kammerdeckel, Kammerboden und dem Präparateträger mit Präparathülse bestehen.

2. Das Blendensystem

Die Forderung nach intensiven und scharfen Linien bei geringer Streustrahlung ist vor allem durch die Wahl eines geeigneten Blendensystems realisierbar.

In der Mittelebene (Äquator) ist der Kammermittelteil für Strahleintritt und -austritt durchbohrt. Vorderblende (S1) und Präparateblende (S2 und S3) werden in einem konischen Rohr zu einem Kollimator zusammengesetzt, der als Einheit in die Bohrung für den Strahleintritt gesteckt wird. Der Träger für die Streustrahlblende (S4) enthält einen kleinen Leuchtschirm, der zum Strahlenschutz mit einer 8 mm dicken Bleiglasscheibe hinterlegt ist (s. Abb. 2).

Abb.2: Blendensystem der DEBYE-SCHERRER-Kammer



Die Blenden S1 und S2 mit Durchmessern von 0,5 - 1,0 mm sind je Satz gleich groß und werden gleich oder etwas größer als der Durchmesser des Präparatestäbchens gewählt. S2 liegt in der Mitte zwischen Filmzylinder und Präparat. Die Streustrahlung bleibt gering, da die Blenden S3 und S4 dicht am Präparat liegen.

Da wir immer mit Präparatedurchmessern von 0,2 - 0,5 mm arbeiteten, wählten wir die kleinsten Rundblendensätze (Nr. 1 und 6). Wir verwendeten Rundblenden, da sich bei Schlitzblenden das Intensitätsmaximum zum Linienrand verschiebt, wir aber in der Linienmitte messen.

3. Der Arbeitsbereich der Röntgenröhren

Die Belastbarkeit der Feinstrukturrohre bei Dauerleistung hängt von der Wärmeleitfähigkeit, vom Schmelzpunkt und von der Größe des Brennpunktes des Anodenmaterials ab.

Die Intensität der charakteristischen Strahlung wächst zwar bis zum Erreichen der 6 - 7fachen Anregungsspannung, gleichzeitig aber strahlt die Röhre zunehmend das kontinuierliche Spektrum aus.

Unter Berücksichtigung des Verhältnisses Linienstrahlung zu Untergrundstrahlung findet sich die günstigste Anregungsspannung bei der vierfachen Anregungsspannung. Gleichzeitig sind bereits 80 % der maximalen Intensität erreicht (NEFF, 1962).

Wir arbeiteten mit der Cu-Röhre und deshalb folglich mit einer Röhrenspannung von 35 kV bei einem Röhrenstrom von 25 - 30 mA.

4. Zweck der KB-Filter

Beim DEBYE-SCHERRER-Verfahren wird monochromatische Röntgenstrahlung benötigt. Da beim Überschreiten der Anregungsspannung die charakteristische Strahlung sowie ein überlagerndes Bremspektrum ausgestrahlt werden, verwendet man Selektiv-Filter. Diese absorbieren die starken KB-Linien und einen Teil des Bremsstrahluntergrundes. KB-Filter sind Elemente, deren Absorptionskante etwas kurzwelliger als die KB-Linie des Anodenmaterials ist. Das wäre für die von uns verwendete Cu-Anode Nickel.

5. Probenzubereitung

Beim DEBYE-SCHERRER-Verfahren wird eine mit dem Achatmörser feinpulvrig gestoßene Probe in dünne Lindemann-Glaskapillaren gefüllt. Die feinkristalline Probe wird mit schwer schmelzbarem Wachs auf einem Metallträger befestigt und dieser auf die drehbare Führungshülse im Kammerboden gesteckt. Die Führungshülse enthält den Justierstab, der von außen mittels Justierschraube einjustierbar ist.

Die genaue Justierung geschieht mit Hilfe eines 20fach vergrößernden Justiermikroskops. Nach STRAUMANIS und JEVINS (1940) genügt eine Einstellgenauigkeit von 0,02 mm. Nach Befestigung des Kammerbodens mit Präparat am dafür vorgesehenen Winkelstück des Justiermikroskops wird durch wiederholtes Drehen des Präparateträgers und Nachstellen der Justierschraube solange korrigiert, bis sich das Präparat schlagfrei im Mikroskop bewegt.

Das zentrierte Stäbchen rotiert nach dem Einsetzen des Kammerbodens in das zylindrische Kammergehäuse genau in Höhe des Blendensystems in der Zylinderachse und wird durch einen an der Kammer anschraubbaren Kammermotor gleichmäßig gedreht.

Der für die Kammer passende Röntgenfilm wird in der Dunkelkammer ausgestanzt und eingelegt.

IV. Auswertung der Röntgenfeinstrukturdiagramme

1. Ermittlung von Theta (θ)

Beim Pulververfahren wird das Präparat mit monochromatischer Röntgenstrahlung durchstrahlt. Die jeweiligen Interferenzen liegen auf den Kegeln der Öffnungswinkel $2 \cdot 2 \theta$, in deren Spitze die Probe liegt. Auf dem Röntgenfilm, der die Probe zylinderförmig umgibt, entstehen als Schnittlinien mit den Reflexionskegeln gleichmäßig geschwärzte Interferenzlinien, da die Kristalle in statistischer Verteilung im Präparat liegen.

Eine bestimmte Netzebenenschar (h, k, l) reflektiert dann den Röntgenstrahl, wenn der Einfallswinkel die Größe des Glanzwinkels Theta erreicht, der die BRAGG'SCHE Gleichung erfüllt ($2d \sin \theta = n \cdot \lambda$). Da Lambda (λ) konstant bleibt, erzeugt eine Netzebenenschar des Gitterabstandes d Reflexionen, die auf einem Öffnungswinkel von 4θ liegen.

2. Messung der Interferenzlinienabstände

Die genaue Abstandsbestimmung der entsprechenden Linien wird mit dem Koinzidenzmaßstab von Siemens vorgenommen.

Der Koinzidenzmaßstab ist eine Kombination von Glasmaßstab und Meßuhr. Mit einer feingängigen Stellschraube läßt sich der Glasmaßstab verschieben. Auf der gegenüberliegenden Seite wird die Bewegung druckmechanisch abgetastet und auf eine Meßuhr mit $1/100$ mm Einteilung übertragen. Man erreicht mit sechsfacher Lupenvergrößerung eine Genauigkeit von $\pm 0,01$ (Siemens Eg-Anleitung 465), was bei unserer Kammer einem Winkel von $\pm 0,02^\circ$ entspricht.

Gemessen wird von Linienmitte zu Linienmitte. Man bestimmt dabei zuerst die Linienbreite und geht vom rechnerisch ermittelten Linienmittelpunkt zur homologen Linie, deren Mittelpunkt ebenso bestimmt wird.

3. Errechnung von Theta und der Gitterkonstanten d

Um zu ermitteln, wie groß ϑ ist, setzt man die entsprechenden Größen zueinander ins Verhältnis. Wenn x der gemessene Linienabstand ist, gilt:

$$\frac{4\vartheta}{360} = \frac{x}{2R\pi}$$

$$\vartheta = 1/4 \frac{360}{2R\pi} \cdot x$$

Der Kammerdurchmesser ist dabei mit 57,3 mm so günstig festgelegt, daß der Kammerumfang $2R\pi = 180$ (mm) ergibt. Setzen wir diesen Wert in obige Gleichung ein, so erhalten wir: $\vartheta = x/2$ oder $x = 2\vartheta$.

Wir erhalten folglich aus den mit dem Koinzidenzmaßstab gemessenen Längeneinheiten des Linienabstandes den doppelten Glanzwinkel in Winkelgraden. Mit der BRAGG'SCHEN Gleichung errechnet man den Netzebenenabstand d. Da Tabellen vorhanden sind, aus denen durch Aufsuchen von $2\vartheta (=x)$ sofort der entsprechende d-Wert ablesbar ist, erübrigt sich die gesamte Rechnung.

4. Korrektur des d-Wertes

Der d-Wert, den man so erhält, muß aber noch korrigiert werden; denn im Röntgen-Bereich bewirken geringe Abweichungen des Kammerdurchmessers und der Filmschrumpfung eine meßbare Abweichung vom tatsächlichen Wert (1ϑ).

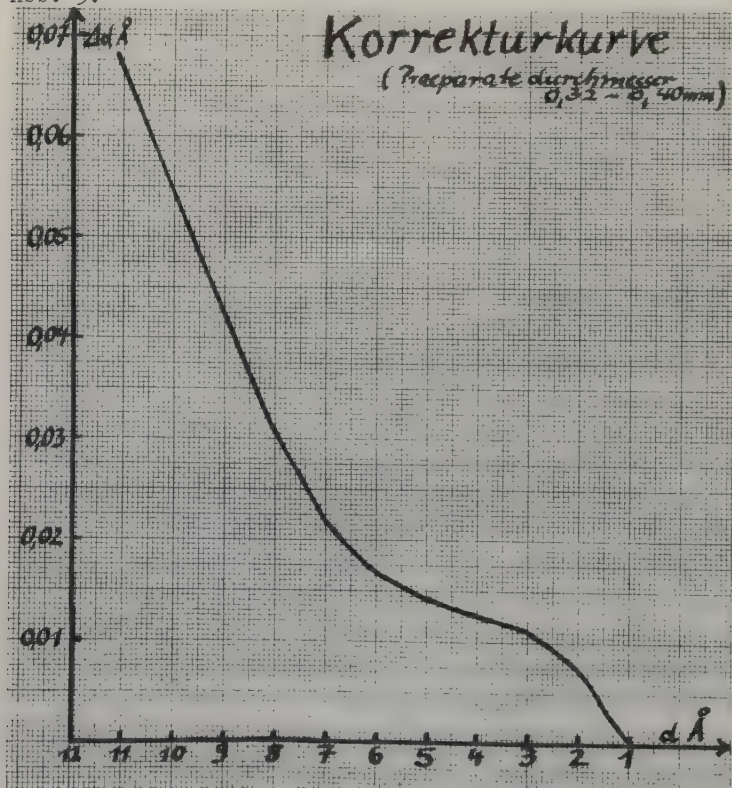
Linienverschiebungen bis zu $1/2^\circ$ bei den vorderen Interferenzen durch Präparateabsorption, die sogenannte Stäbchen-Korrektur, ist eine bekannte physikalische Tatsache. (NEFF 1962; ein Fehler, der aber bei Pulveraufnahmen zu vernachlässigen ist.)

Die endliche Höhe des Präparates gibt eine weitere Verschiebung des Linienschwerpunktes. Die Verschiebung hat eine Abweichung der Gitterkonstanten zur Folge. Der Fehler

ist besonders groß bei Verwendung von Schlitzblenden. Beim Arbeiten mit Rundblenden kann dieser Fehler vernachlässigt werden. Wir verwenden daher nur Rundblenden.

Da die Abweichungen sich gleichbleibend über das d -Wertspektrum erstrecken, haben wir die Röntgenbeugungsdiagramme einiger Substanzen angefertigt, deren d -Werte bekannt und gesichert sind. Die Abweichung wird als Ordinate in ein Koordinatensystem eingetragen, der gemessene d -Wert steht in der Abszisse. So läßt sich punktweise eine Kurve konstruieren, aus der man zu jedem ermittelten d -Wert einen Korrekturwert entnehmen kann (Abb. 3).

Abb. 3:



Zur Aufstellung der Kurve verwendeten wir die d-Werte folgender Substanzen:

11,100	Å	Kalziumglukonat
9,820		Kalziumglukonat
8,230	✓	Alizarin
7,560		CaSO ₄
6,500		Alizarin
6,390		AsO ₃
5,140		Kalziumglukonat
4,270		CaSO ₄
3,416	✓	Alizarin
3,200		AsO ₃
3,060		CaSO ₄
2,821		NaCl
2,540		AsO ₃
1,994		NaCl
1,628		NaCl

Es zeigte sich, wie aus der Kurve ersichtlich ist, daß vor allem bei den hohen d-Werten sich der Öffnungswinkel des Beugungskegels verkleinert hatte, so daß sich ein zu hoher Wert für die Gitterkonstante errechnet.

5. Über die Linienintensität und ihre Ermittlung

Die Linienintensitäten werden in Prozent der intensivsten Linie angegeben. Da gleichwertige Ebenen auf dieselbe Stelle des Films reflektieren, muß die Linienintensität proportional der Flächenhäufigkeitszahl sein. Für die Strukturanalyse ist die genaue Ermittlung möglichst vieler Reflexionsintensitäten unerlässlich.

Wir bestimmten die jeweils stärksten Intensitäten mit dem Photometer (JARREL-ASH-Mikrophotometer). Die Genauigkeit der photographischen Verfahren für Intensitätsbestimmungen ist aber nicht sehr groß. Besser sind Verfahren, die die ionisierende Wirkung der Röntgenstrahlung auswerten (Zählrohr- Goniometer).

Bei Kristallen des kubischen Systems kann man mit dem DEBYE-SCHERRER-Verfahren mit hoher Genauigkeit die Gitterkonstante bestimmen. Bei Kristallen mit tetragonaler und hexagonaler Symmetrie (mit zwei Gitterkonstanten a_0 , c_0) ist es grundsätzlich noch möglich, aber kompliziert. Für rhombische, monokline und triklin Kristalle ist die Anwendung des DEBYE-SCHERRER-Verfahrens nicht mehr möglich.

Wie anfangs erwähnt, findet das DEBYE-SCHERRER-Verfahren in der Mikroanalytik vielfach Anwendung. Auch dabei gibt man die Intensitäten der Linien in Prozent der stärksten Interferenzen an (relative Intensität I/I_0).

Manche Autoren kennzeichnen Intensitätswerte auf andere Weise, da auch wenigerpräzise Angaben der Intensität zur Identifikation ausreichen:

JERSLEV und RAVN-JONSON (1960) bezeichnen die Schwärzung mit drei Qualitäten: strong (s), medium (m), weak (w), die sie noch mit einem +, -, oder ohne Vorzeichen versehen, so daß sie neun Abstufungen erhalten.

SAX, MIGLIORE und BAUGHMAN (1962) stufen so ab: VS (very strong), S (strong), M (medium), W (weak) und VW (very weak).

PENPRASE und BILES (1956) kennzeichnen einfach die drei stärksten Linien mit einem a=strong.

6. Die ASTM-Kartei

Jede kristalline Substanz ergibt mit dem DEBYE-SCHERRER-Verfahren ihrem Kristallaufbau entsprechend ein charakteristisches Beugungsdiagramm. Diese Tatsache verstand man für Analysezwecke zu nutzen. So gibt die American Society for Testing and Materials jährlich immer neue Beugungsdaten untersuchter Substanzen heraus, die in Karteikartenform gehalten sind.

Neben den wichtigen d-Werten enthält die Karte Angaben über Anodenmaterial, kristallographische und kristall - optische Angaben, physikalische Konstanten, Quellenangabe und Strukturformel.

Jede Substanz, die in die Karte aufgenommen ist, erscheint dreimal in dem sogenannten Hanawalt-Index (ASTM a) nämlich unter dem d-Wert der drei intensivsten Interferenzlinien. Der Index für organische Substanzen, der uns interessiert, enthält d-Werte von 20 - 1,5 Å und ist in 87 Gruppen aufgeteilt. Die gesuchte Substanz erscheint darin unter d_1 , d_2 , d_3 , sowie unter d_2 , d_1 , d_3 und d_3 , d_1 , d_2 mit Intensitätsangabe in Prozent der stärksten Linie.

Obwohl dieses Werk noch nicht lange im Gebrauch ist, erfüllt es bereits nicht mehr die gestellten Anforderungen. Vor allem, wenn es darum ging, Gemische zu identifizieren, entsprach dieser Index vielfach nicht den Erfordernissen, da häufig die relativen Intensitäten nicht ermittelt werden konnten. Daher wurde 1964 der sogenannte Fink-Index (ASTM b) herausgegeben. In diesem Nachschlagewerk sind die d-Werte der acht intensivsten Linien aufgeführt, die weniger als 9,99 Å betragen. Die d-Werte, die größer als 10 Å sind, sind nur dann verzeichnet, wenn ihre Intensität gleich 100 ist. Wenn man die Korrekturkurve betrachtet, ist sofort ersichtlich, daß die Abweichung bei hohen d-Werten am größten ist und somit die Meßgenauigkeit am geringsten. Wenn zwischen mehreren d-Werten derselben Intensität gewählt werden muß, wird der höhere d-Wert genannt. Wenn weniger als acht d-Werte ermittelt wurden, werden die fehlenden mit 0,00 Å registriert.

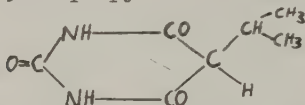
Die Substanz findet sich unter jedem der acht d-Werte:
 $d_1 - d_8$; $d_2, d_3 - d_8, d_1$; $d_3 - d_8, d_1, d_2$; $d_4 - d_8, d_1, d_3$;
 $d_5 - d_8, d_1, d_4$; $d_6 - d_8, d_1, d_5$; d_7, d_8, d_1, d_6 ; $d_8, d_1 - d_7$.

Die relativen Intensitäten sind nicht angeführt. Dieser Index enthält eine Anleitung zur Identifizierung von Gemischen.

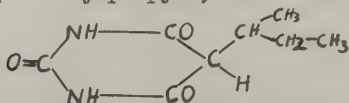
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

In dieser Arbeit werden die folgenden drei 5-monosubstituierten Barbitursäuren auf ihr polymorphes Verhalten untersucht:

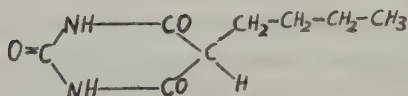
5-Isopropyl-barbitursäure



5-(1-Methylpropyl-)barbitursäure



5-n-Butylbarbitursäure



I. Untersuchung der Ausgangssubstanzen

Da die 5,5-disubstituierten Barbitursäuren in ihren Handelsprodukten meist nicht in der stabilen Modifikation vorliegen (BRANDSTÄTTER-KUHNERT 1966), wurden von den obengenannten Substanzen die Schmelzpunkte bestimmt, die IR-Spektren und Röntgenfeinstrukturdiagramme aufgenommen, sowie ihr Reinheitsgrad papierchromatographisch untersucht. Beim Vergleich der Schmelzpunkte der von Riedel de Haen ¹⁾ erhaltenen und der nach den Vor-

1) Wir bedanken uns bei der Firma Riedel de Haen für die Überlassung der Substanzen.

schriften von EHRLICH (1908) und FISCHER und DILTHEY (1904) hergestellten ¹⁾5-monosubstituierten Barbitursäuren ergaben sich keine Unterschiede. Sie stimmten mit den in der Literatur beschriebenen überein.

5-Isopropylbarbitursäure: Smp 215-216°C
(BEILSTEIN 1954, 214-216°C)

5-(1-Methylpropyl)barbitursäure: Smp 198-199°C
(BEILSTEIN 1954, 197-199°C)

5-n-Butylbarbitursäure: Smp 208-210°C
(BEILSTEIN 1954, 208-209°C)

(Leitz Mikroskop-Heiztisch 350).

Auch die IR-Spektren (KBr-Preßlinge) der synthetischen Substanzen und der Riedel de Haen-Substanzen waren identisch.

Die entsprechenden Röntgenfeinstrukturdiagramme zeigten ebenfalls keine Unterschiede.

Anschließend wurden die Substanzen papierchromatographisch in dem Laufmittelgemisch Butanol/Ammoniak (100 : 15) aufgetrennt. Im UV-Licht zeigte sich jeweils nur eine absorbierende Fraktion, deren Rf-Werte für 5-Isopropylbarbitursäure bei 0,30 - 0,34, für 5-(1-Methylpropanol)barbitursäure bei 0,42 - 0,46 und für 5-n-Butylbarbitursäure bei 0,37 - 0,38 lagen.

1) Wir bedanken uns bei Herrn Dr. Brehm, Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg, für die Herstellung der Substanzen.

II. Bestimmung der d-Werte der Ausgangssubstanzen

Da die d-Werte der 5-Isopropylbarbitursäure, der 5-(1-Methylpropyl-)barbitursäure und der 5-n-Butylbarbitursäure weder in der ASTM-Kartei noch in der Literatur aufgeführt sind, bestimmten wir sie nach dem DEBYE-SCHERRER-Verfahren.

Die ermittelten d-Werte der Ausgangssubstanzen sind aus den Tabellen 1, 2 und 3 ersichtlich.

Von jeder Substanz wurden die zehn besten Aufnahmen einzeln vermessen. Aus den Einzelwerten jeder Linie errechnete sich der Mittelwert $2\theta_m$ und die größte Abweichung vom Mittelwert $\Delta_{m_{\max}}$. Aus den einzelnen Abweichungen ergibt sich die mittlere Abweichung $\Delta_{m_{\text{rel}}}$, die nur angegeben wurde, wenn die maximale Abweichung mehr als 0,02 Å betrug.

Tabelle 1:

d-Werte der 5-Isopropylbarbitursäure (Cu, K₂)

$2 \vartheta_m$ (mm)	n	Δm_{max} (mm)	Δm_{rel} (mm)	dm Å	$-\Delta d$ Å	d korrr Å	I/I ₀ %
7,42	10	0,02		11,7460	0,0720	11,6740	100
14,80	3	0,02		5,9804	0,0165	5,9639	
17,50	10	0,02		5,0633	0,0142	5,0491	85
18,50	10	0,04	0,03	4,7918	0,0137	4,7781	
20,94	10	0,02		4,2386	0,0127	4,2259	15
22,80	10	0,02		3,8969	0,0122	3,8847	30
25,02	10	0,04	0,02	3,5559	0,0117	3,5442	75
26,10	3	0,02		3,4112	0,0115	3,3997	
27,00	10	0,02		3,2995	0,0113	3,2882	60
27,86	10	0,02		3,1996	0,0112	3,1884	35
28,78	10	0,02		3,0993	0,0111	3,0882	35
31,06	10	0,02		2,8768	0,0107	2,8661	70
32,80	10	0,02		2,7281	0,0104	2,7177	25
34,12	5	0,02		2,6255	0,0100	2,6155	20
36,16	10	0,04	0,02	2,4819	0,0096	2,4723	30
38,06	2	0,02		2,3623	0,0092	2,3531	
39,82	10	0,02		2,2618	0,0087	2,2531	20
41,50	10	0,02		2,1741	0,0083	2,1658	15
42,70	5	0,04	0,024	2,1157	0,0080	2,1077	10
44,78	5	0,04	0,36	2,0221	0,0075	2,0146	8
47,38	2	0,04		1,9171	0,0067	1,9104	
51,02	5	0,02		1,7885	0,0055	1,7830	10
53,24	1			1,7190	0,0050	1,7140	
57,84	1			1,5928	0,0042	1,5886	
60,04	1			1,5396	0,0040	1,5356	

Tabelle 2:

d-Werte der 5-(1-Methylpropyl)barbitursäure (Cu, K α)

$2\vartheta_m$ (mm)	n	Δm_{max} (mm)	Δm_{rel} (mm)	dm Å	$-\Delta d$ Å	d korr Å	I/I ₀ %
6,84	10	0,02		12,9120	0,0990	12,8130	100
13,72	10	0,06	0,035	6,4486	0,0185	6,4301	30
14,66	10	0,02		6,0372	0,017	6,0202	55
16,50	10	0,02		5,3679	0,015	5,3529	75
17,56	10	0,02		5,0462	0,0142	5,0320	85
21,96	5	0,02		4,0440	0,0125		20
23,32	10	0,02		3,8112	0,0122	3,7990	60
24,40	5	0,02		3,6449	0,0190	3,6259	
26,58	10	0,06	0,040	3,3507	0,0140	3,3467	60
28,80	10	0,02		3,0972	0,0111	3,0861	60
30,00	10	0,02		2,9760	0,0109	2,9651	30
31,86	10	0,02		2,8064	0,0106	2,7958	20
33,03	5	0,02		2,7096	0,0103	2,6903	
35,15	10	0,05	0,024	2,5509	0,0100	2,5409	30
39,55	10	0,02		2,2767	0,0088	2,2679	15
42,24	10	0,04	0,013	2,1377	0,0081	2,1296	10
45,02	1			2,0119	0,0075	2,0044	
46,16	1			1,9648	0,007	1,9578	

Tabelle 3:

d-Werte der 5-n-Butylbarbitursäure (Ausgangsmodifikation)
(Cu, K α)

$2\theta_m$ (mm)	n	Δm_{max} (mm)	Δm_{rel} (mm)	dm Å	Δd Å	d korr Å	I/I ₀ %
5,08	10	0,03	0,02	17,3810	0,1750	17,206	100
9,10	10	0,02		9,7096	0,0507	9,6589	85
11,46	10	0,02		7,7148	0,0275	7,6873	25
15,56	10	0,02		5,6900	0,0157	5,6743	30
17,48	10	0,02		5,0691	0,0142	5,0549	60
18,20	10	0,02		4,8701	0,0140	4,8561	65
19,26	10	0,02		4,6044	0,0135	4,5909	80
20,12	10	0,04	0,02	4,4095	0,0130	4,3965	45
21,62	5	0,02		4,1068	0,0127	4,0941	25
23,20	10	0,02		3,8306	0,0122	3,8184	40
24,18	10	0,04	0,03	3,6775	0,0120	3,6655	20
26,56	10	0,02		3,3556	0,0115	3,3441	65
27,28	5	0,02		3,2663	0,0112	3,2551	55
28,88	10	0,02		3,0888	0,0110	3,0778	80
31,86	5	0,04	0,03	2,8064	0,0105	2,7959	20
33,02	10	0,02		2,7104	0,0103	2,7001	15
35,20	10	0,02		2,5474	0,0100	2,5374	35
36,56	1			2,4557	0,0097	2,4460	
37,50	1			2,3962	0,0095	2,3867	15
39,52	1			2,2783	0,0089	2,2694	5
40,88	1			2,2056	0,0085	2,1971	15
42,82	1			2,1100	0,0080	2,1020	20

III. Thermomikroskopische Untersuchungen der Ausgangs- substanzen auf Kristallwasser

Da nach MITSCHERLICH (1822, 1823) unter Polymorphie das Auftreten verschiedener Kristallarten eines Stoffes bei gleichbleibender chemischer Beschaffenheit verstanden wird, ist die Anwendung dieses Begriffes auf lösungsmittelhaltige Formen zu vermeiden.

BRANDSTÄTTER-KUHNERT und GRIMM (1968) stellten fest, daß bei Cortisonacetat elf lösungsmittelhaltige Kristallformen auftreten, die zur falschen Annahme neuer Modifikationen verleiten können.

L.KOFLER und A.KOFLER (1954) beschreiben das Verhalten wasserhaltiger Stoffe. Häufig entweicht das Lösungsmittel, oft nur am Zerschneiden der Kristalle erkennbar, und erst später schmilzt die Substanz. Manchmal schmilzt die Substanz, erstarrt bei weiterem Temperaturanstieg, bis dann schließlich die wasserfreie Substanz erneut schmilzt.

Mit differentialthermoanalytischen Methoden können bei kontinuierlicher Temperatursteigerung endotherme und exotherme Vorgänge erfaßt werden.

MACHBERT (* 1)) berichtet über eine wasserhaltige Kristallform bei Phenobarbital, die von einigen Autoren (MESLEY et al., 1968) als Modifikation angeführt wird. Er beobachtet das Entweichen des Kristallwassers im Paraffinölpräparat als Bläschenbildung und Aufschäumen.

Wir prüften die 5-monosubstituierten Barbitursäuren in Paraffin- bzw. Silikonöl auf dem Mikroskopheiztisch, um wasserhaltige Formen auszuschließen. Bei keiner der drei Substanzen konnte Bläschenbildung beobachtet werden.

* 1) im Druck

IV. Kristallisation aus verschiedenen organischen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur

1. Löslichkeit und Einfluß der Lösungsmittel auf die Kristallform

Wir untersuchten, ob bei den drei monosubstituierten Barbitursäuren nach Rekristallisation aus verschiedenen organischen Lösungsmitteln unterschiedliche Kristallformen entstehen.

Entsprechend ihrer Polarität geordnet verwendeten wir folgende:

	Dielektrizitäts- konstante
Äthanol	25,0
Aceton	21,0
Essigester	6,0
Chloroform	4,8
Äther	4,3
Benzol	2,3
Tetrachlorkohlenstoff	2,2

Es wurden je 10 mg Substanz in etwa 20 ml Lösungsmittel bei Raumtemperatur gelöst. Im allgemeinen stimmten die Lösungsgeschwindigkeiten mit der Polarität des Lösungsmittels überein. In Äthanol allerdings lösten sie sich langsamer als in Aceton und Essigester.

Die 5-Isopropylbarbitursäure löste sich in allen Lösungsmitteln am leichtesten auf, dann die 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure und am schwersten die 5-n-Butylbarbitursäure.

Damit nicht ungelöste Kristalle der Ausgangsmodifikation als Impfkristalle wirken, wurden Substanzrückstände abfiltriert. Anschließend ließen wir unsere Verbindungen bei Raumtemperatur auskristallisieren.

Eine sorgfältige Schilderung des Kristallaussehens genügt nicht, da nur exakte Angaben durch kristallographische Daten eine Substanz gegenüber anderen beschreiben können.

Wir beobachteten eine Ähnlichkeit der Kristalle bei den drei monosubstituierten Barbitursäuren. Es fiel aber auf, daß die Substanzen aus den verschiedenen Lösungen phänotypisch unterschiedlich auskristallisierten.

PENPRASE und BILES (1956) beobachteten bei der Kristallisation von Barbituraten aus Lösungsmitteln die Bildung unterschiedlicher Kristalle, ohne daß es sich hierbei um polymorphe Formen handelte.

Die Unterschiede in der Kristallmorphologie sind auf den Einfluß des Lösungsmittels zurückzuführen. Die größten Kristalle entstanden bei allen drei 5-monosubstituierten Barbitursäuren aus Aceton, die kleinsten aus Tetrachlorkohlenwasserstoff. Das Kristallwinkelbild wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht bestimmt.

a. Kristalle der 5-Isopropylbarbitursäure

Die Kristalle aus Aceton der 5-Isopropylbarbitursäure hatten ein zweiseitig abgeflachtes, prismatisches Aussehen, so daß sie als lanzettförmig bezeichnet werden können. Sie lagen auch nicht so flach an der Gefäßwand an, so daß die prismatische Kristallgestalt deutlich ausgeprägt erschien. Aus Äther entstanden feine und aus Chloroform feinste büschelförmige Kristallnadeln, die jeweils zu kugeligen Aggregaten vereinigt waren.

b. Kristalle der 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure

Bei der 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure entstanden aus Äther kleine einzeln stehende prismenartige Platten, während sich aus ~~der~~ Aceton und Äthanol größere Kristalle (3-5 mm) bildeten.

c. Kristalle der 5-n-Butylbarbitursäure

Von der 5-n-Butylbarbitursäure erhielten wir bereits aus Äthanol feine büschelige, nadelförmige Kristalle. Aus Chloroform entstanden so winzige Kriställchen, daß makroskopisch nur eine wattebauschähnliche, weiße Masse zu erkennen war, die in rundlichen Aggregaten lagerte.

d. d-Werte

Von allen bei Raumtemperatur auskristallisierten Substanzen wurden die d-Werte bestimmt. Sie erwiesen sich mit denen der Ausgangsmodifikationen identisch.

2. Kristallisation aus organischen Lösungsmitteln über dem Wasserbad

Wir benutzten dieselbe Versuchsanordnung und dieselben Lösungsmittel, kristallisierten aber über dem siedenden Wasserbad aus. Dadurch erreichten wir eine Kristallbildung bei verschiedenen Temperaturen entsprechend dem Siedepunkt der Lösungsmittel.

Die 5-Isopropylbarbitursäure und die 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure lagen aus allen Lösungsmitteln in der Ausgangsmodifikation vor, wie die Bestimmung der d-Werte ergab.

Dagegen erhielten wir bei der 5-n-Butylbarbitursäure aus allen organischen Lösungsmitteln über dem siedenden Wasserbad ein Kristallprodukt, dessen d-Werte sich von denen der Ausgangssubstanz deutlich unterschieden. Weitere Untersuchungen der erhaltenen Substanz sind auf Seite , im Abschnitt VI beschrieben.

V. Sublimationsversuche

In der chemisch-toxikologischen Analyse findet die Sublimation als ein unerläßliches Hilfsmittel zur Reinigung und Identifizierung häufig Anwendung.

Sublimation heißt, daß eine Substanz unmittelbar aus dem festen Zustand über den dampfförmigen in den festen Zustand übergeht. Verschiedene Autoren empfehlen bei der Suche nach neuen Modifikationen bei Barbitursäurederivaten die Sublimation: BRANDSTÄTTER-KUHNERT und AEPKERS (1962 a,b), BRANDSTÄTTER-KUHNERT und GRIMM (1968), A.KOFLER und FISCHER (1935), L. KOFLER und A. KOFLER (1954).

Nach L. KOFLER und A.KOFLER (1954) bilden sich metastabile Modifikationen bei größerem Deckglasabstand und kurzer Sublimationszeit, während die stabileren Modifikationen bei geringerem Deckglasabstand auskristallisieren.

A.KOFLER und FISCHER (1935) erkannten, daß durch geringe Beimengungen anderer Substanzen die Entstehung instabiler Modifikationen begünstigt ist.

JERSLEV und RAVN-JONSON (1960) berichten, daß vor allem bei der Vakuumsublimation neue Modifikationen entstehen.

1. Deckglassublimation

Die Versuche wurden mittels der KOFLER-Heizbank bei 100° , 120° , 130° , 150° , 160° und 180° bei einem Objekt-trägerabstand von etwa 1 mm durchgeführt.

Die Gewinnung kristalliner Substanz zur Anfertigung eines LINDEMANN-Glasröhrchen-Präparats erwies sich bei Sublimation im 100°C -Bereich als schwierig, während man bei höheren Temperaturen darauf achten mußte, daß nicht Ausgangssubstanz und Sublimationsprodukt ineinander wuchsen.

Die DEBYE-SCHERRER-Aufnahmen zeigten, daß bei Sublimationstemperaturen bis 150°C bei allen drei 5-monosubstituierten Barbitursäuren die Ausgangsmodifikation vorlag.

Erst als wir bei Temperaturen von 160° und 180°C sublimierten und den Deckglasabstand verdoppelten, gelang es uns, nur bei der 5-n-Butylbarbitursäure die gleiche Substanz zu erhalten, die sich beim Eindampfen der Lösungsmittel über dem Wasserbad bildete. Genauere Untersuchungen dieser Substanz sind auf Seite , im Abschnitt VI beschrieben.

2. Vakuumsublimation nach SCHMIDT (1959)

In ein ca. 50 cm langes Glasrohr wird zur späteren Sicherung des Sublimats eine Hostaphanfolie mittels eines Drahtes gezogen, in die ein Wattebausch mit der betreffenden Substanz gebracht wird. An diesem Ende wird das Glasrohr zugeschmolzen.

Das Glasrohr wird in ein horizontales Führungsrohr gebracht, das von einem Mantelrohr mit Heizspirale umgeben wird und an eine Vakuumpumpe angeschlossen.

Die gewünschte Sublimationstemperatur wird durch Verschieben des Glasrohres im Temperaturgradienten eingestellt. Nach Beendigung der Sublimation wird die Glasröhre über dem Sublimat zersägt, so daß man die einzelnen Kristallfraktionen auf der Folie ausschneiden und untersuchen kann.

Wir sublimierten unsere Substanzen bei 80° , 130° und 160°C . Es ergab sich bei der Auswertung der Röntgenbeugungsdiagramme der Kristallfraktionen, daß in allen Fällen die Ausgangsmodifikation vorlag.

3. Sublimation im Heizschrank

Wir gaben etwa 100 mg reiner Substanz in eine 7 - 10 cm hohe Glasschale, bedeckten diese mit einer Glasplatte und stellten sie bei der gewünschten Temperatur auf den Boden des Heizschrankes.

Die drei 5-monoalkylierten Barbitursäuren wurden in Temperaturbereichen von 110-115°, 120-125°, 130-135° und 140-145°C sublimiert.

Die Kristalle bildeten sich vorwiegend an der Glaswand, weniger an der Deckplatte.

Wir untersuchten sofort nach Entnahme, um etwaige Änderungen der d-Werte festzustellen.

Der Vorteil dieser Versuchsanordnung ist, daß nicht nur eine annähernd konstante Temperatur über einen größeren Zeitraum eingehalten werden kann, und daß man größere Gefäße oder Behälter mit höheren Substanzmengen verwenden kann, sondern daß auch ein geringerer Temperaturgradient vorliegt. Bei dieser Methode entstanden die jeweiligen Ausgangsmodifikationen.

Da die Kristalle, die über einen Zeitraum von 3-7 Tagen entstanden waren, die aus Lösungsmitteln gewonnenen an Größe weit übertrafen, fertigten wir mit dem Zeiss-Fotomikroskop Aufnahmen dieser Kristalle an.



Abb. 4

5-Isopropylbarbitursäure

Abb. 5

5-(1-Methyl-
propyl)-bar-
bitursäure

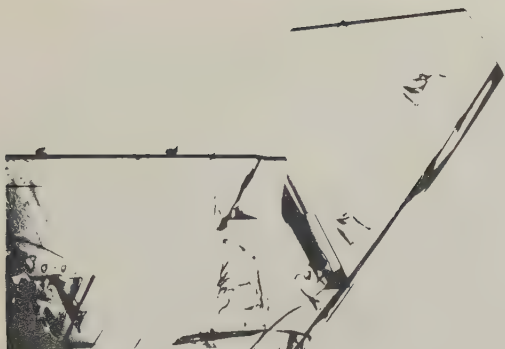
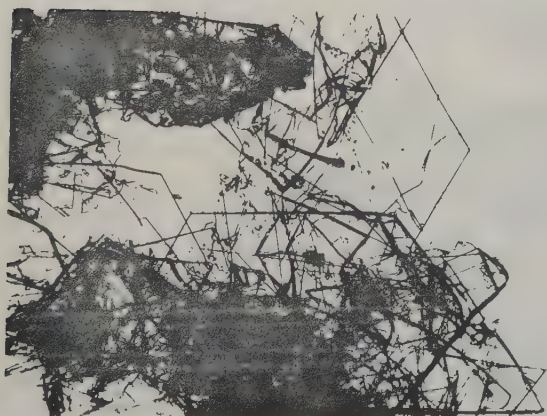


Abb. 6

5-n-Butyl-
barbitur-
säure



VI. Polymorphe Formen bei der 5-n-Butylbarbitursäure

Bei der Kristallisation der 5-n-Butylbarbitursäure Ausgangssubstanz aus organischen Lösungsmitteln über dem siedenden Wasserbad erhielten wir, wie auf Seite 27, Absatz IV, 2, ausgeführt wurde, eine Substanz, die andere d-Werte aufwies als das Ausgangsmaterial. Zu der gleichen Verbindung gelangten wir bei der Deckglas-sublimation auf der KOFLER-Heizbank bei Temperaturbereichen über $150/160^{\circ}\text{C}$ (siehe Seite 29, Absatz V, 1).

Bei der Vakuumsublimation der Ausgangssubstanz bei einer Temperatur von etwa 180°C entstanden Kristalle (siehe Abb. 7), deren d-Werte mit denen der neuen Substanz übereinstimmten.

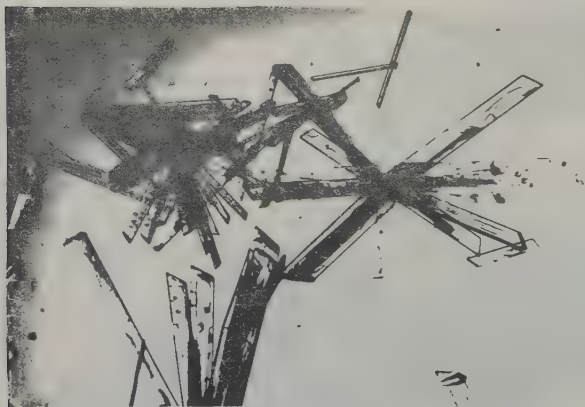


Abb. 7
Kristalle
der 5-n-
Butylbar-
bitursäure
(Modifika-
tion I)

Beim Erhitzen dieser Verbindung auf dem Mikroheiztisch wurde der Schmelzpunkt der Ausgangssubstanz beobachtet ($209-210^{\circ}\text{C}$). Kristallumwandlungen konnten wir nicht erkennen. Nach Rekristallisation aus der Schmelze zeigte

das Röntgenfeinstrukturdiagramm, daß die neue Substanz vorlag.

Nun erhitzen wir die Ausgangssubstanz der 5-n-Butylbarbitursäure bis in einen Bereich, der etwa 20°C unterhalb des Schmelzpunktes lag. Hierbei erhielten wir das Röntgenfeinstrukturdiagramm der neuen Substanz. Es war deshalb anzunehmen, daß eine Kristallumlagerung stattgefunden hat.

Anschließend erhitzen wir die Ausgangssubstanz der 5-n-Butylbarbitursäure auf dem Mikroskopheiztisch bis zu einer vorher festgelegten Temperatur. Dabei stellten wir fest, daß die Umlagerung ab etwa 156°C erfolgte. Bei Temperaturen unter 156°C konnte auch bei längerer Versuchsdauer keine Veränderung der Ausgangssubstanz beobachtet werden.

Eine Umwandlung der neuen Modifikation in die Ausgangssubstanz erfolgte bei der Aufbewahrung im Heizschrank in Temperaturbereichen von 110° - 155°C innerhalb von zwei bis vier Tagen.

Um eine lösungsmittelhaltige Form auszuschließen, betteten wir die neue Modifikation in Paraffinöl. Beim Erhitzen auf dem Mikroskopheiztisch ließen sich keine Gasblasen feststellen.

1. Deutung der Versuche

Bei unseren Versuchen stellten wir fest, daß die 5-n-Butylbarbitursäure in zwei verschiedenen Modifikationen vorliegen kann. Diese lassen sich ineinander umwandeln. Da die eine Modifikation (Ausgangssubstanz) unterhalb 156°C , die andere Form bei Temperaturen über 156°C stabil ist, handelt es sich um ein Beispiel enantiotroper Umwandlung. Bei der neuen Modifikation handelt es sich

um die stabile (I), bei der Ausgangsmodifikation dagegen um die metastabile Modifikation (II).

2. Die d-Werte der neuen Modifikation

Die d-Werte der Gitterkonstanten der Modifikation I der 5-n-Barbitursäure wurden ermittelt. Sie sind aus der folgenden Tabelle 4 ersichtlich. Die d-Werte der Ausgangssubstanz (Modifikation II) finden sich auf Seite 23, Tabelle 3.

Tabelle 4:

d-Werte der 5-n-Butylbarbitursäure (Modifikation I)
(Gu, Koo)

$2\vartheta_m$ (mm)	$\Delta m_{\max}$ n	Δm_{rel} (mm)	d Å	Δd Å	d korr Å	I/I_0 %	
5,60	10	0,04	0,02	15,7680	0,1500	15,6180	100
15,14	10	0,02		5,8469	0,0163	5,8306	30
17,28	10	0,02		5,1273	0,0143	5,1130	70
18,96	10	0,02		4,6766	0,0136	4,6630	60
20,14	10	0,03	0,02	4,4052	0,0130	4,3922	30
22,92	10	0,02		3,8768	0,0122	3,8646	34
24,64	10	0,02		3,6099	0,0180	3,5919	15
26,42	10	0,02		3,3706	0,0130	3,3676	50
27,18	5	0,02		3,2780	0,0112	3,2678	
29,48	5	0,03	0,02	3,0273	0,0110	3,0163	
30,68	10	0,02		2,9116	0,0109	2,9007	37
34,06	10	0,02		2,6300	0,0102	2,6198	15
35,64	5	0,04	0,03	2,5169	0,0097	2,5072	18
39,74	5	0,05	0,03	2,2662	0,0088	2,2574	14
42,26	2	0,02		2,1367	0,0081	2,1286	

VII. Kristallisation aus Wasser

1. Versuchsanordnung

Wir wogen je 50 mg Substanz ab und setzten destilliertes Wasser bis zur Lösung zu, ohne den Auflösungsvorgang durch Erwärmen zu beschleunigen.

Es zeigte sich, daß sich die 5-Isopropylbarbitursäure auch in Wasser am schnellsten löste, dann die 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure und etwas schlechter die 5-n-Butylbarbitursäure.

Anschließend verdunstete das Lösungsmittel bei Raumtemperatur. Die erhaltenen Substanzen zeigten keine Einzelkristalle, sondern boten mehr ein amorphes Aussehen.

2. Identitätsbestimmung

Die Röntgenfeinstrukturdiagramme der erhaltenen Verbindungen zeigten andere d-Werte als die Ausgangssubstanzen. Ob es sich hierbei um Modifikationen oder um neue Verbindungen handelte, sollten weitere Untersuchungen klären.

a) UV-spektroskopische Untersuchung

Die UV-Kurven der im Boratpuffer (pH 10) gelösten Substanzen zeigten, daß die für 5-monosubstituierte Barbitursäuren typischen Absorptionsbande bei 267-268 nm nur noch schwach ausgeprägt war und ein neues Absorptionsmaximum bei 243 nm auftrat.

STUCKEY (1942) nahm die UV-Spektren von 5-monosubstituierten Barbitursäuren auf. Er fand bei 5-monosubstituierten Barbitursäuren Absorptionsbanden bei etwa 267 nm, dagegen bei 5,5-disubstituierten Barbitursäuren Absorptionen bei 240 nm.

Auch fand er, daß durch den Luftsauerstoff eine Oxydation der 5-monosubstituierten Barbitursäuren an C₅ stattfindet. Es entsteht dadurch die entsprechende 5-Hydroxy-barbitursäure.

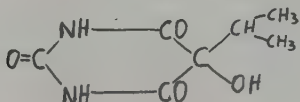
Nach STUCKEY (1942) besitzen 5-Hydroxy-5-monosubstituierte Barbitursäuren ein Absorptionsmaximum bei 240 nm. Diese Verschiebung von 267 nm auf 243 nm bei den erhaltenen Verbindungen läßt vermuten, daß sich die entsprechenden 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren bildeten.

b) Darstellung der 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren

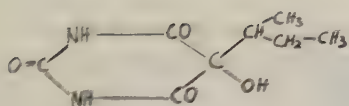
Wir stellten die 5-Hydroxyverbindungen der 5-Isopropyl-barbitursäure und der 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure nach der von DOUMAS und BIGGS (1962) modifizierten Methode von ASPELUND (1933) her.

50 mg der jeweiligen Ausgangsbarbitursäure wurden in etwa 100 ml 30 %iger H₂O₂-Lösung gelöst und mehrere Stunden stehen gelassen. Die Lösung wurde im Rotationsverdampfer bei 60°C unter vermindertem Druck bis zur Trockne eingedampft. Eine kleine Menge der erhaltenen Substanz wurde in Boratpuffer (pH 10) gelöst und spektrophotometrisch untersucht. Hierbei zeigte sich eine Absorptionskurve mit einem Maximum bei 243 nm.

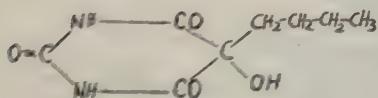
Die 5-Hydroxy-5-n-butyl-barbitursäure wurde nicht nach dieser Vorschrift hergestellt, da bereits nach einmaliger Auskristallisation aus Wasser die UV-Absorptionskurve vollständiges Verschwinden der Bande bei 267 nm anzeigte.



5-Hydroxy-5-isopropyl-barbitursäure



5-Hydroxy-5-(1-methylpropyl)-
barbitursäure



5-Hydroxy-5-n-butylbarbitur-
säure

c) Vergleich der Röntgenbeugungsdiagramme

Beim Vergleich der DEBYE-SCHERER-Aufnahmen von den aus Wasser und nach obiger Vorschrift hergestellten 5-Hydroxy-barbitursäurederivaten beobachteten wir lediglich bei der 5-Hydroxy-5-isopropylbarbitursäure geringe Unterschiede. Bei der aus Wasser auskristallisierten Substanz waren zwei Interferenzlinien zu einer Linie vereinigt (s. Abb. 8), während bei der nach DOUMAS und BIGGS (1962) hergestellten 5-Hydroxy-5-isopropylbarbitursäure diese Linien deutlich getrennt sind (Abb. 9).

Abb. 8: 5-Hydroxy-5-isopropylbarbitursäure aus Wasser

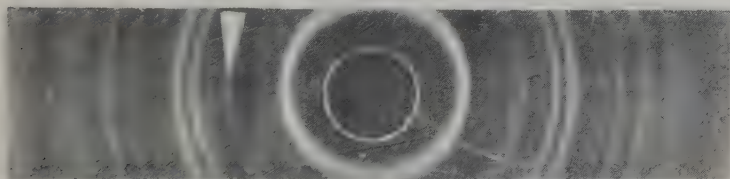
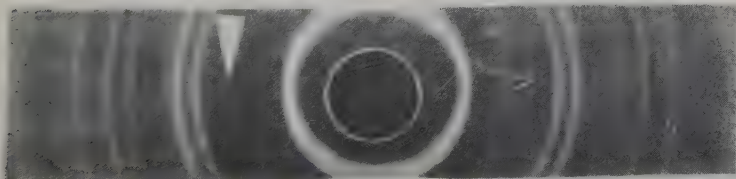


Abb. 9: 5-Hydroxy-5-isopropylbarbitursäure nach DOUMAS und BIGGS (1962)



Völlige Übereinstimmung der Röntgenbeugungsdiagramme erhielten wir nach der nochmaligen Auskristallisation aus Wasser.

3. Sublimation im Heizschrank

Wir gaben etwa 10 mg der 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren in eine Glasschale, bedeckten diese mit einer Glasplatte und stellten diese in einen auf 120 - 130°C erwärmten Heizschrank.

Nach drei bis vier Tagen hatten sich durch Sublimation Kristalle auf der Schälchenwand gebildet, die folgende Aufnahmen zeigen:



Abb. 10
5-Hydroxy-5-
isopropylbar-
bitursäure

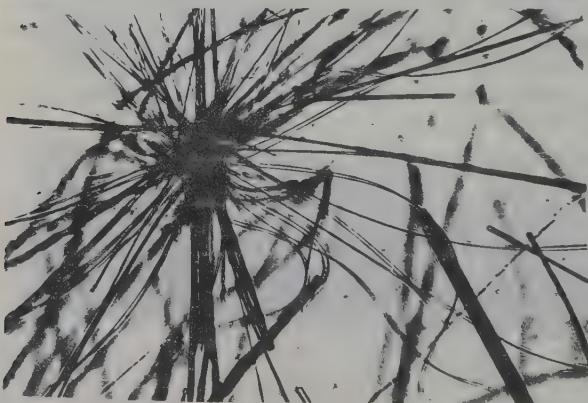


Abb. 11
5-Hydroxy-5-
(1-methylpro-
pyl)-barbitur-
säure

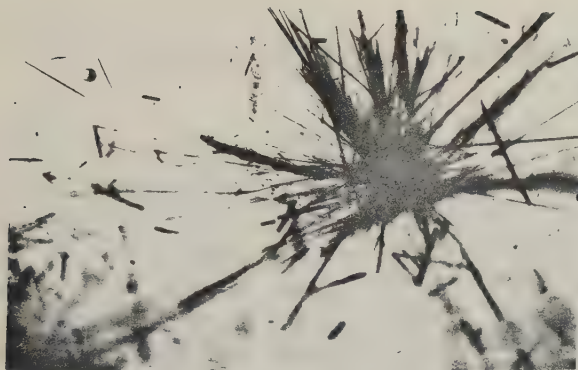


Abb. 12
5-Hydroxy-5-n-
butylbarbitur-
säure

Wir untersuchten die Kristalle in Paraffinöl eingebettet auf dem Mikroskopheiztisch. In keinem der drei Fälle beobachteten wir Bläschenbildung. Die Röntgendiagramme erwiesen sich als identisch mit Aufnahmen, die von den Substanzen vor der Sublimation im Heizschrank angefertigt wurden.

4. Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte der erhaltenen Verbindungen bestimmten wir auf dem Leitz-Heiztischmikroskop:

5-Hydroxy-5-isopropylbarbitursäure: 192 - 193°C

5-Hydroxy-5-(1-methylpropyl)-barbitursäure: 208 - 210°C

5-Hydroxy-5-n-butylbarbitursäure: 179 - 180°C.

5. Die Gitterkonstanten der 5-Hydroxy-5-alkylbarbitursäuren

Wir ermittelten die d-Werte der von uns untersuchten 5-Hydroxybarbitursäuren mit dem DEBYE-SCHERRER-Verfahren; sie sind aus den folgenden Tabelle 5 - 7 ersichtlich.

Tabelle 5:

d-Werte der 5-Hydroxy-5-isopropyl-barbitursäure (Cu, K α)

$2\theta_m$ (mm)	n	$\Delta_{m_{max}}$ (mm)	$\Delta_{m_{rel}}$ (mm)	d_m $\text{\AA}$	$-\Delta_d$ $\text{\AA}$	d korr $\text{\AA}$	I/I ₀ %
7,86	10	0,08	0,05	11,2380	0,0690	11,1690	100
12,28	10	siehe		7,2014	0,0232	7,1782	30
13,48	10	Text		6,5629	0,0180	6,5449	30
16,14	10	0,04	0,02	5,4868	0,0155	5,4713	70
17,50	10	0,04	0,02	5,0633	0,0132	5,0501	70
20,38	10	0,02		4,3538	0,0130	4,3408	35
21,78	10	0,02		4,0770	0,0125	4,0645	45
23,76	10	0,02		3,7416	0,012	3,7296	55
24,98	3	0,04		3,5615	0,0117	3,5498	
26,54	8	0,02		3,3556	0,0114	3,3442	45
27,22	8	0,02		3,2733	0,0113	3,2620	40
28,68	8	0,02		3,1099	0,0112	3,0987	20
31,12	3	0,02		2,8714	0,0108	2,8606	22
32,14	8	0,02		2,7826	0,0105	2,7721	65
34,48	8	0,04	0,03	2,5989	0,0100	2,5889	10
36,08	5	0,05	0,035	2,4872	0,0097	2,4775	20
37,66	2	0,02		2,3864	0,0094	2,3770	
39,06	1			2,3041	0,0090	2,2951	
40,60	1			2,2201	0,0086	2,2115	
42,20	1			2,1396	0,0082	2,1314	
44,64	1			2,0281	0,0075	2,0205	
45,08	1			2,0094	0,0075	2,0019	
46,60	1			1,9473	0,0070	1,9403	
48,44	3	0,02		1,8775	0,0062	1,8713	5

Tabelle 6:

d-Werte der 5-Hydroxy-5-n-butyl-barbitursäure (Cu, K₂)

$2\theta_m$ (mm)	n	$\Delta m_{\max}$ (mm)	Δm_{rel} (mm)	dm Å	$-\Delta d$ Å	d korr Å	I/I ₀ %
5,56	10	0,06	0,04	15,8810	0,1540	15,7270	100
9,56	10	0,04	0,03	9,2434	0,0450	9,1984	35
14,68	10	0,02		6,0290	0,0170	6,0120	34
16,70	10	0,02		5,3040	0,0147	5,2893	57
18,62	10	0,02		4,7612	0,0137	4,7475	29
20,10	10	0,02		4,4138	0,0131	4,4007	34
21,00	10	0,02		4,2267	0,0127	4,2140	28
21,74	10	0,02		4,0844	0,0126	4,0718	50
23,10	10	0,02		3,8470	0,0122	3,8348	20
23,78	10	0,02		3,7385	0,0120	3,7265	24
24,56	10	0,02		3,6215	0,0118	3,6097	31
25,72	10	0,02		3,4607	0,0115	3,4492	37
26,94	10	0,02		3,3067	0,0113	3,2954	
28,14	10	0,02		3,1684	0,0111	3,1573	20
30,32	10	0,02		2,9453	0,0109	2,9344	15
31,34	5	0,02		2,8518	0,0108	2,8410	
32,72	10	0,02		2,7346	0,0104	2,7242	18
35,32	10	0,02		2,5390	0,0098	2,5292	30
36,74	5	0,02		2,4441	0,0095	2,4346	5
38,10	5	0,02		2,3599	0,0091	2,3508	9
40,68	5	0,02		2,2160	0,0085	2,2075	5

Tabelle 7:

d-Werte der 5-Hydroxy-5-(1-methylpropyl)-barbitursäure
(Cu, K α)

$2\vartheta_m$ (mm)	n	Δm_{max} (mm)	Δm_{rel} (mm)	dm Å	$-\Delta d$ Å	d korr Å	I/I ₀ %
5,54	5	0,02		15,9380	0,1560	15,7820	100
9,65	10	0,02		9,1574	0,0447	9,1127	47
11,09	3	0,02		7,9714	0,0297	7,9417	
14,82	10	0,03	0,02	5,9724	0,0167	5,9557	66
16,74	10	0,04	0,03	5,2914	0,0147	5,2767	35
18,36	10	0,02		4,8280	0,0137	4,8143	50
20,18	10	0,02		4,3965	0,0130	4,3835	35
21,58	10	0,04	0,02	4,1144	0,0125	4,1029	39
23,02	10	0,02		3,8601	0,0122	3,8479	25
24,40	10	0,02		3,6449	0,0119	3,6330	25
24,65	10	0,05	0,027	3,6084	0,0117	3,5967	29
26,92	10	0,06	0,034	3,3091	0,0114	3,2977	42
28,10	10	0,04	0,02	3,1728	0,0112	3,1616	47
30,31	10	0,03	0,02	2,9462	0,0109	2,9353	31
31,50	5	0,06	0,034	2,8376	0,0106	2,8270	
32,97	10	0,04	0,027	2,7174	0,0102	2,7072	32
34,09	10	0,05	0,02	2,6278	0,0100	2,6178	
35,40	10	0,06	0,024	2,5334	0,0098	2,5346	36
37,28	10	0,02		2,4099	0,0095	2,4004	23
38,20	5	0,02		2,3539	0,0093	2,3446	19
40,62	10	0,02		2,2191	0,0085	2,2106	19
41,92	1			2,1532	0,0083	2,1449	
43,80	1			2,0651	0,0077	2,0574	
46,98	1			1,9324	0,0067	1,9257	
49,82	1			1,8287	0,0058	1,8229	
51,22	1			1,7820	0,0055	1,7765	
55,36	1			1,6581	0,0045	1,6536	

6. Kristallisation aus Wasser über dem Wasserbad

Während wir feststellen konnten, daß bei Kristallisation beim Raumtemperatur aus Wasser Hydroxylierung stattfindet, tritt dies bei Kristallisation über dem siedenden Wasserbad nicht auf. Die Röntgenfeinstrukturdiagramme waren mit denen der Ausgangssubstanzen identisch.

Allerdings zeigte sich, daß die 5-n-Butylbarbitursäure die instabilste der von uns untersuchten Barbitursäuren ist, da beim Kochen bis zur Kristallisation eine Verunreinigung der Restsubstanz feststellbar war. Wir führen die Verunreinigung auf Spaltprodukte der eingekochten Substanz zurück.

7. Ursache der leichten Hydroxylierung 5-monosubstituierter Barbitursäuren

In der Literatur wurde mehrfach festgestellt, daß 5-monosubstituierte Barbitursäuren leicht oxydiert werden.

NISHIKAWA (1931) schreibt in seiner Arbeit über die Stereoisomerie der 5-Methylbarbitursäure, daß sie beim Stehenlassen in Wasser vom Luftsauerstoff oxydiert wird und sich langsam auflöst. Dabei nahm die spezifische Leitfähigkeit zu.

STUCKEY (1942) und HAYAISHI und KORNBERG (1952) berichten ebenfalls über Oxydation der 5-Methylbarbitursäure durch Luftsauerstoff.

WADDEL (1965) beobachtete die Entstehung von 5-Hydroxy-5-(1-Methylbutyl)-barbitursäure, wenn in Wasser gelöste 5-(1-Methylbutyl)-barbitursäure dem Luftsauerstoff ausgesetzt wird.

CHANG und WU (1956) bestätigen die Anfälligkeit der 5-monosubstituierten Barbitursäuren gegen Oxydation durch Luftsauerstoff in ihrer Arbeit, auf die wir später noch genauer eingehen wollen.

BREDERECK, FÖHLISCH und FRANZ (1966) untersuchten Polymerisationsinitiatoren der allgemeinen Formel: $A-CH(R)-B$. Sie beobachteten, daß in Gegenwart von Kupfer-II-Ionen, Chlorionen und Luftsauerstoff unter den carbo- oder heterocyclischen Verbindungen die 5-monosubstituierten Barbitursäuren im Gegensatz zu 5,5-disubstituierten Barbitursäuren zu den aktivsten Substanzen gehörten. Die Autoren führen dies auf eine Autoxydation an der CH-Gruppe des Barbitursäureringes zurück, da bei Abwesenheit von Luftsauerstoff keine Polymerisationen auftreten. Die besondere Aktivität der CH-Gruppe sei durch die Elektronen anziehenden CO-Gruppen verursacht.

VIII. Gefriertrocknung

Als Gefriertrocknung bezeichnet man die Sublimations-trocknung von Gefriermaterial (ERBEN, 1967). Es handelt sich dabei um eine Methode, die darauf beruht, daß Eis bei Temperaturen unter $0^{\circ}C$ und vermindertem Druck sublimiert. Wir verwendeten bei den Versuchen die Gefrier-trockenanlage BETA (Christ, Osterode).

1. Versuchsablauf

Wir lösten eine Spatelspitze der jeweiligen 5-Monoalkyl-barbitursäure in möglichst wenig Wasser, filtrierten und stellten die Lösung in die Tiefkühltruhe (etwa $-25^{\circ}C$). Am folgenden Tage wurde die Vakuumsublimation vorgenommen. Der Zeitbedarf für die Gefriertrocknung betrug mehrere Stunden.

Der Rückstand sah watteähnlich aus und war feinpulvrig. Vor dem Abfüllen in die Lindemann-Glaskapillaren wurde nicht mit dem Achtmörser pulverisiert, um durch Verreiben ausgelöste Umlagerungen zu vermeiden.

2. Ergebnisse

Wir verglichen die Röntgendiagramme der drei 5-mono-substituierten Barbitursäuren mit denen der 5-Hydroxy-derivate und kamen zu folgenden Ergebnissen:

Die 5-Isopropylbarbitursäure liefert bei der Gefriertrocknung die Ausgangssubstanz;
die 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure ergibt hauptsächlich Ausgangssubstanz, aber auch einen Anteil 5-Hydroxy-5-(1-methylpropyl)-barbitursäure;
die 5-n-Butylbarbitursäure liefert hauptsächlich die entsprechende 5-Hydroxy-5-n-butylbarbitursäure, neben geringer Menge Ausgangssubstanz.

Wir nehmen daher an, daß die von uns untersuchten 5-mono-substituierten Barbitursäuren während der Röntgenaufnahmen das Lösungsmittel Wasser freigaben und zu einem gewissen Teil autoxydierten.

Die Zeitdauer für die Herstellung der Röntgenpulverdiagramme betrug:

- 2,5 - 3 Stunden bei der 5-Isopropylbarbitursäure,
- 3 Stunden bei der 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure,
- 4 Stunden bei der 5-n-Butylbarbitursäure.

Man muß dann noch die Zeitdauer der Präparation, der Justierung und des Filmeinlegens hinzurechnen, so daß noch etwa 20 - 30 Minuten dazu kommen. Während dieser Zeitspanne kann wenigstens ein Teil der Substanzen durch den in der Kapillare vorhandenen Sauerstoff oxydiert werden, zumal die Temperatur in der DEBYE-SCHERRER-Kammer um ca. 10°C gegenüber der Umgebung erhöht ist.

IX. Über die Entstehung eines roten Farbstoffes

Da wir einige Schälchen von den Lösungsmittelversuchen, die mengenmäßig mehr Substanz enthielten, für weitere Versuche aufbewahrten, fiel uns zuerst bei den aus Wasser auskristallisierten 5-Hydroxy-barbitursäuren eine Rotfärbung auf. Diese war im Laufe von einigen Wochen in unterschiedlicher Intensität bei den aus Wasser auskristallisierten 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren entstanden. Sie erstreckte sich von den Kristallen am Schälchenrand aus beginnend bis zu den Kristallen in der Schälchenmitte.

Besonders auffallend rot gefärbt erschienen die Kristalle der 5-Hydroxy-5-isopropyl-barbitursäure. Ein roter Farbton zeigte sich auch bei den Ausgangsbarbitursäuren.

Die Röntgenpulveraufnahmen einzelner besonders intensiv gefärbter Kristalle zeigten nur die bekannten Linien.

Wir lösten einige rotgefärbte Kristalle in Wasser, um durch erneutes Auskristallisieren eine Kristalltrennung bzw. -anreicherung zu erhalten. Die rote Farbe verschwand aber nach dem Auflösen bei Raumtemperatur langsam und beim Erwärmen schnell. In Aceton nahm der Farbstoff beim Erwärmen eine braunrote Färbung an.

Eine Intensivierung des roten Farbtones erreichten wir mehr zufällig nach Auflösung in Essigsäure und anschließender Entfernung des Lösungsmittels über dem Wasserbad. Dabei erhielten wir bei allen Substanzen die intensivste Färbung.

Die rotgefärbten Kristalle zeigten nach dem Auflösen in Wasser eine Absorptionskurve mit einem Maximum bei 510 - 516 nm (Beckmann DK 2).

1. Literaturangaben über Rotfärbung 5-monosubstituierter Barbitursäuren

Bereits GERNGROSS (1905) stellte fest, daß sich das an sich farblose Na-Salz der 5-Methylbarbitursäure an der Luft rötlich färbt.

NISHIKAWA (1931) berichtet, daß sich die 5-Hydroxy-5-methyl-barbitursäure rot verfärbt, wenn sie auf 100°C erhitzt wird.

LEE und STETTEN (1952) beschreiben, daß Rattenharn bei Alloxanaufnahme eine rote Färbung bekam, die sie als Murexidbildung erklärten.

D'OUVILLE et al. (1939) fanden bei ihrer aus Alloxan und Benzylmerkaptan synthetisierten 5-Hydroxy-5-(benzylthio)-barbitursäure beim Stehenlassen an der Luft einen tiefroten Farbton.

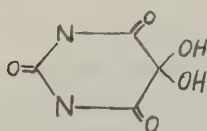
CHANG und WU (1956) publizierten, daß bei einigen Pyrimidinen und bei der 5-Hydroxy-5-O-benzylbarbitursäure, die sie im Exsikator gehalten hatten, ein roter Farbton entstand. Sie geben weiterhin an, daß der rote Farbton durch Umkristallisation in Wasser verschwand. Ihr so hergestelltes Produkt entwickelte keine rote Farbe mehr.

WINSLOW (1939) stellte die Kondensation von Dialursäure und Alloxan ($C_4H_2N_2O_4 \cdot 4H_2O$) in heißer wässriger Lösung zu Alloxantin ($C_8H_6N_4O_8 \cdot 2H_2O$) fest. Als er auf Alloxantin Ammoniak einwirken ließ, entstand das purpurrote Murexid (siehe Formelbild).

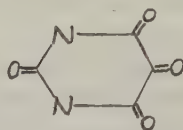
Dialursäure

+

Alloxan



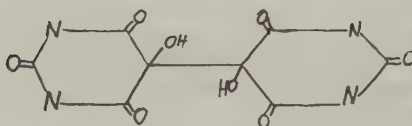
+



→

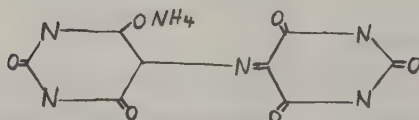
Alloxantin

→



Murexid

+ NH₃ →



Bei der Säurehydrolyse von Murexid bildeten sich Alloxan und Uramil.

2. Darstellung des roten Farbstoffes aus Alloxan

Wir lösten eine Spatelspitze Alloxan in Essigsäure und dampften die Lösung über dem Wasserbad ein. Das Ergebnis war eine intensiv purpurrot gefärbte Substanz, die ebenso wie die aus den Barbitursäuren gewonnene Rotfärbung ein Absorptionsmaximum bei 510-516 nm hatte.

D. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Die Röntgenfeinstrukturanalyse ist ein wertvolles Verfahren zur Untersuchung von Kristallstrukturen. Auf Grundlagen und Anwendung des DEBYE-SCHERRER-Verfahrens wurde im allgemeinen Teil eingegangen.

Für die Identifizierung der Barbiturate und ihrer Stoffwechselprodukte ist z.B. bei der infrarot-spektroskopischen Untersuchung die Kenntnis erforderlich, ob diese während des chemisch-toxikologischen Untersuchungsganges in verschiedenen Kristallformen (Polymorphismus) auftreten können.

In vorliegender Arbeit untersuchten wir mit dem DEBYE-SCHERRER-Verfahren 5-monosubstituierte Barbitursäuren auf ihr polymorphes Verhalten. Hierzu wurden die 5-Iso-propylbarbitursäure, die 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure und die 5-n-Butylbarbitursäure aus organischen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur und über dem kochenden Wasserbad auskristallisiert. Weiterhin wurden die einzelnen Substanzen auf der Kofler-Heizbank erhitzt und Sublimationsversuche durchgeführt.

Da die Gitterkonstanten der 5-monosubstituierten Barbitursäuren in der Literatur nicht beschrieben waren, wurden zunächst die d-Werte der Ausgangssubstanzen ermittelt.

Von den bei den Versuchen erhaltenen Substanzen wurden etwa 200 DEBYE-SCHERRER-Diagramme aufgenommen und die errechneten d-Werte mit denen der Ausgangssubstanzen verglichen.

Bei der Kristallisation der drei 5-monosubstituierten Barbitursäuren aus organischen Lösungsmitteln (Äthanol,

Aceton, Essigester, Chloroform, Äther, Benzol und Tetrachlorkohlenstoff) bei Raumtemperatur erhielten wir die d-Werte der Ausgangssubstanzen.

Während bei der Kristallisation aus organischen Lösungsmitteln und aus Wasser über dem kochenden Wasserbad bei der 5-Isopropylbarbitursäure und bei der 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure auch die d-Werte der Ausgangssubstanzen festgestellt werden konnten, fanden wir bei der 5-n-Butylbarbitursäure unter diesen Versuchsbedingungen andere d-Werte.

Die gleiche Substanz erhielten wir aus der Ausgangssubstanz nach Erhitzen über 156°C , bei der Deckglassublimation im Temperaturbereich über $150/160^{\circ}\text{C}$ und bei der Vakuumsublimation nach SCHMIDT (1959) bei 160 und 180°C . Die Umwandlung unserer Substanz in die Ausgangsmodifikation erfolgte bei Lagerung in Temperaturbereichen unter 156°C . Da eine reversible Umwandlung bei 156°C erfolgt, handelt es sich um ein Beispiel enantiotroper Umlagerung. Bei der neuen Modifikation handelt es sich um die stabile (I), bei der Ausgangsmodifikation dagegen um die metastabile Modifikation (II).

Die Kristallisationsprodukte der drei 5-monosubstituierten Barbitursäuren aus Wasser bei Raumtemperatur zeigten bei der UV-spektrophotometrischen Untersuchung in Boratpuffer (pH10) ein Absorptionsmaximum bei 243nm . Da das Absorptionsmaximum bei allen 5-monosubstituierten Barbitursäuren in Boratpuffer (pH10) bei $267\text{--}268\text{ nm}$ liegt, war anzunehmen, daß eine Substitution am C5-Atom erfolgte. Auf die leichte Oxydierbarkeit der 5-monosubstituierten Barbitursäuren am C5-Atom in wässriger Lösung wiesen bereits NISHIKAWA (1931), STUCKEY (1942), HAYAISHI und KORNBERG (1952), WADDEL (1965) und

BREDERECK, FÖHLISCH und FRANZ (1966) hin. Wir stellten deshalb nach der Methode von DOUMAS und BIGGS (1962) die entsprechenden 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren her. Der Vergleich der Gitterkonstanten dieser Substanzen mit den von uns gewonnenen bewies, daß sich aus 5-Isopropylbarbitursäure, 5-(1-Methylpropyl-)barbitursäure und 5-n-Butylbarbitursäure aus Wasser bei Raumtemperatur 5-Hydroxy-5-isopropylbarbitursäure, 5-Hydroxy-5-(1-methylpropyl)-barbitursäure und 5-Hydroxy-5-n-butylbarbitursäure bildeten.

Bei der Lagerung der 5-monosubstituierten Barbitursäuren und der 5-Hydroxy-5-alkyl-barbitursäuren an der Luft färbten sich die Kristalle rot. Den gleichen Farbton erhielten wir bei der Kristallisation der 5-monosubstituierten Barbitursäuren aus Essigsäure über dem Wasserbad. Wir vermuten, daß die Farbstoffbildung auf einer ähnlichen Reaktion beruht, wie sie von WINSLOW (1939) bei der Murexidbildung aus Alloxan und Alloxantin festgestellt wurde.

Ähnliche Versuche, wie sie in dieser Arbeit beschrieben sind, wurden von FLÄMIG (1971) mit den gleichen Substanzen mit Hilfe der IR-Spektroskopie durchgeführt. Hierbei ergaben sich übereinstimmende Ergebnisse.

E. LITERATURVERZEICHNIS

ASPELUND, H.: Über substituierte Dialur- und Hydurilsäuren, J. prakt. Chem. 136, 329 (1933)

ASTM-Kartei:

- a) Index (inorganic, organic) to the Powder Diffraction File 1964. The Numerical (Hanawalt) Index, published by the American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Baltimore.
- b) Fink Inorganic and Organic Index to the Powder Diffraction File 1964, published by the American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Baltimore.

BEILSTEIN: Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4. Aufl., (2. Ergänzungswerk) Band XXIV, Syst. Nr. 3618, S. 278 und 484, hg. v. F. Richter, Verlag Springer, Berlin 1954.

EHRLICH, F.: Über die Synthese des Isoleucins, Ber. dt. Chem. Ges. 41, 1455 (1908).

BRAGG, W.L.: The reflexion of X-rays by cristalls, Proc. Roy. Soc. London (A) 89, 246 (1914).

BRANDSTÄTTER-KUHNERT, M. und M. AEPKERS: Polymorphieuntersuchungen an Barbituraten durch mikroskopische Thermanalyse an Zweistoffsystemen, Mikroskopie 16, 181 (1961).

BRANDSTÄTTER-KUHNERT, M. und M. AEPKERS: Molekülverbindungen, Mischkristallbildung und Polymorphiefälle bei Barbituraten (1. Mitteilung), Microchim. Acta 6, 1041 (1962a).

BRANDSTÄTTER-KUHNERT, M. und M. AEPKERS: Molekülverbindungen, Mischkristallbildung und Polymorphiefälle bei Barbituraten, Microchim. Acta 6, 1055 (1962 b).

BRANDSTÄTTER-KUHNERT, M.: Thermomikromethoden zur Identifizierung von organischen Substanzen, in: Gadamer's Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte, 3. Aufl., hg. v. E. Graf und Fr. R. Preuß, Band II, Allgemeine Methoden, hg. v. E. Graf, Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen 1966.

BRANDSTÄTTER-KUHNERT, M. und H. GRIMM: Zur Unterscheidung von lösungsmittelhaltigen pseudopolymorphen Kristallformen und polymorphen Modifikationen bei Steroidhormonen I. Microchim. Acta 1968, 115 (1968).

BREDERECK, H., B. FÜHLISCH und R. FRANZ: Über CH-aktive Polymerisationsinitiatoren. XIII. Mitteilung, Makromolek. Chemie 92, 70 (1966).

- BUSH, T.M. and E. SANDERS: Metabolic Fate of Drugs: Barbiturates and closely related compounds, *Ann. Rev. Pharmacol.* 7, 57 (1967).
- CHANG, P. and SHAO-LAN WU: 5-Hydroxypyrimidines. I. Synthesis of 2-substituted 4, 5, 6-trihydroxypyrimidines *Sci. Sinica* 6, 279 (1956).
- DOUMAS, B. and H.G.BIGGS: Nonenzymic decomposition of 5-methyl-barbituric acid, *J. Biol. Chem.* 237, 2306 (1962).
- EBERT, A.G., G.K.W.YIM and T.S. MIYA: *Biochem. Pharmacol.* 13, 1267 (1964), zit: BUSH, T.M. and E. SANDERS (1967).
- ERBEN, J.: Verwendung der Lyophilisation bei der chemisch-toxikologischen Analyse, *Arch. Toxikol.* 22, 410 (1967).
- EVANS, R.C.: Einführung in die Kristallchemie, Johann-Ambrosius Barth-Verlag, Leipzig 1954.
- FISCHER, E. und A. DILTHEY: Über C-Dialkylbarbitursäuren und über die Ureide der Dialkylelessigsäure, C-Monoalkylbarbitursäuren, *Liebigs An. d. Chem.* 335, 335 (1904).
- FLÄMIG, F.M.: Polymorphie und chemische Beständigkeit der 5-Isopropylbarbitursäure, 5-(1-Methylpropyl)-barbitursäure und der 5-n-Butylbarbitursäure, *Diss. Erlangen-Nürnberg* (1971).
- GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, G. MACHBERT und J. GELDMACHER: Zum Stoffwechsel der 5-Vinyl-5-(1-methylbutyl)-barbitursäure beim Menschen, *Arzneim.-Forsch.* 18, 350 (1968).
- GERNGROSS, O.: Über 5-Methylpyrimidin, *Ber. dt. Chem. Ges.* 38, 3394 (1905).
- GOLDSCHMIDT, S. und R. WEHR: Über Barbiturate, III. Mitteilung: Der Metabolismus von Veronal, *Z. physiol. Chem.* 308, 9 (1957).
- GOLDSCHMIDT, S. und F.W. KOSS: Der Stoffwechsel der Barbitursäurederivate III. Der Stoffwechsel des Phanodorms in der Ratte, *Z. physiol. Chem.* 316, 224 (1959 a).
- GOLDSCHMIDT, S. und F.W. KOSS: Der Stoffwechsel der Barbitursäurederivate IV. Der Abbau des Phanodorms in vitro, *Z. physiol. Chem.* 316, 233 (1959 b).

- GRAF, E. und Fr. R. PREUSS: Gadamers Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte, 3. Aufl., Bd. II, Allgemeine Methoden, hg. v. E. Graf, Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen 1966.
- HAYAISHI, O. and A. KORNBERG: Metabolism of cytosine, thymine, uracil and barbituric acid by bacterial enzymes, J. Biol. Chem. 197, 717 (1952).
- JERSLEV, B. and E.R. RAVN-JONSON: The identification of derivatives of barbituric acid by X-ray analysis. X. Pure Pentobarbital, Isomebumal (5-ethyl-5-(1-ethyl-propyl)-barbituric acid) and mixtures of the two compounds, Dansk Tidsskr. Farm. 34, 153 (1960).
- KLEBER, W.: Einführung in die Kristallographie, VEB-Verlag Technik, Berlin 1956.
- KLUEPFEL, D., G.C. LANCINI and G. SARTORI: Metabolism of barbital by streptomyces mediterranei, Appl. Mikrobiol. 13, 600-604 (1965).
- KOFLER, A. und R. FISCHER: Über die Polymorphie des Luminals, Arch. d. Pharm. u. Ber. Dtsch. Pharm. Ges. 273, 483 (1935).
- KOFLER, L. und A. KOFLER: Thermomikromethoden zur Bestimmung organischer Stoffe und Stoffgemische, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1954.
- LEE, J.M. and D. STETTEN jr.: Studies in alloxan metabolism, I. Distribution and excretion of injected alloxan, J. Biol. Chem. 197, 205 (1952).
- MACHBERT, G.: Pseudopolymorphe Kristallformen beim Phenobarbital, Arzneim.-Forsch. (im Druck).
- MESLEY, R.J., R.L. CLEMENTS, B. FLAHERTY and K. GOODHEAD: The polymorphism of phenobarbitone, J. Pharm. and Pharmacol. 20, 329 (1968).
- MITSCHERLICH, E.: Ann. chem. et. phys. 19, 355 (1822); 24, 264 (1823), zit. Graf, E. und Fr. R. Preuß (1966).
- NEFF, H.: Grundlagen und Anwendung der Röntgenfeinstrukturanalyse, R. Oldenbourg-Verlag, München 1962.
- NISHIKAWA, T.: Über die Stereoisomerie der C-Methylbarbitursäure, Ryojun College of Engineering Memoirs 3, 277 (1931).
- D'OUVILLE, E.K., F.J. MYERS and R. CONNOR: 5-Sulfonyl-barbituric acids, J. Am. Chem. Soc. 61, 2033 (1939).

- PENPRASE, W.G. and J.A.BILES: The use of microscopic and X-ray diffraction methods for the identification of barbituric acid derivatives, J. Am. Pharm. Assoc. XLV, 585 (1956).
- PREUSS, Fr. R. und D. MÜLLER: Untersuchung zur Biotransformation von 5-(1'-Methyl-n-butyl)-5-vinylbarbitursäure. 1. Mitteilung: Isolierung und Identifizierung von zwei renalen Ausscheidungsprodukten, Arzneim.-Forsch. 18, 412 (1968).
- SAX, S.M., P.J.MIGLIORI and R.H.BAUGHMAN: Preparation, analysis and X-ray diffraction identification of barbiturate silversalts, Analyt. Biochem. 3, 150 (1962).
- SCHMIDT, G.: Ein Vakuumsublimationsgerät zur Trennung und Reinigung kleiner Substanzmengen, Microchim. Acta 3, 406 (1959).
- STRAUMANIS, M. und A. JEVINS: Die Präzisionsbestimmung der Gitterkonstanten nach der asymmetrischen Methode, Verlag Springer, Berlin 1940.
- STUCKEY, R.E.: The ultra-violet absorption spectra of barbituric acid derivatives. Part II. Ionisation an 5-monosubstituted barbituric acid derivatives, Quart. J. Pharm. and Pharmacol. 15, 370 (1942).
- UKITA, T., Y.KATO, M.HORI and H. NISHIZAWA: On the anti-tumoractivity of nitrogenous cyclic β -diketones, Chem. and Pharm. Bull. 8, 1021 (1960).
- WADDEL, W.: The metabolic fate of 5-allyl-5-(1-methylbutyl)-barbituric acid (Secobarbital), J. Pharm. Expt. Therap. 149, 23 (1965).
- WINSLOW, N.M.: Structure of the murexides and alloxantines, J. Am. Chem. Soc. 61, 2089 (1939).

An dieser Stelle bedanke ich mich bei Herrn Prof.
Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas und
für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem
Institut.

Herrn Dr. rer. nat. G. Machbert danke ich aufrichtig
für seine vielfältigen und wertvollen Anregungen bei
der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Opitz danke ich für die Anfertigung der Auf-
nahmen.

Lebenslauf

Am 14. März 1942 kam ich als einziger Sohn des Ehepaares Eduard Sperling und Edda Sperling, geb. Forssmann, in Posen /Warthegau zur Welt. Nach der Flucht unserer Familie über Leipzig nach Bamberg lebte ich von 1946 bis 1950 im Kinderheim Burgellern bei Bamberg. Nach der Entlassung besuchte ich die Volksschule und das Neue Gymnasium (humanist.) in Bamberg, das ich 1963 mit dem Abitur abschloß.

Vom anschließenden zweijährigen Wehrdienst bei der Fernmeldetruppe des Heeres wurde ich im September 1965 als Reserveoffizier entlassen.

Im WS 1965/66 nahm ich das Medizinstudium an der Universität Erlangen-Nürnberg auf. Im August 1966 legte ich das Vorphysikum, im Februar 1968 das Physikum ab.

Im SS 1968 begann ich am Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg mit meiner Doktorarbeit.

Das medizinische Staatsexamen legte ich im SS 1971 ab.

Seit dem 5. März 1970 bin ich mit der Volksschullehrerin Ilse Sperling, geb. Herrmann, verheiratet und habe eine Tochter.

